

論文の内容の要旨

論文題目 Classic cadherins mediate selective intracortical circuit formation in the mouse neocortex
(細胞接着分子カドヘリンを介したマウス大脳皮質局所回路の形成機構解析)

氏名 脇元 麻有

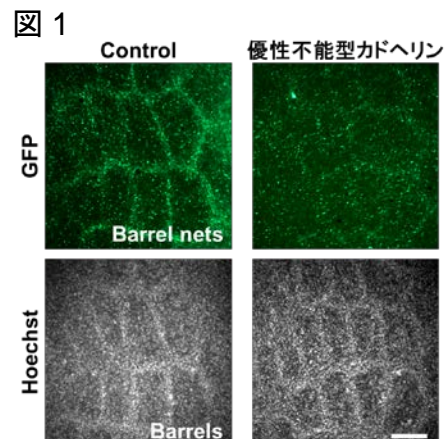
(1)研究の背景と目的

大脳皮質は高次脳機能の基盤であり、発生・発達過程において大脳皮質の局所神経回路が適切に形成されることは、正常な脳機能を獲得するために必須である。大脳皮質の局所神経回路においてはその解剖学的構築や電気生理学的反応の空間的なパターンが明らかになってきている一方で、そのような神経回路の形成メカニズムに関しては不明な点が多かった。そこで私は大脳皮質の局所神経回路の形成メカニズムを解析することにした。

(2)本研究のアプローチ

大脳皮質における局所神経回路のモデルとして、私はマウス一次体性感覚野(バレル野)に存在するバレルネット構造を選択した。バレル野4層には、マウスのひげのパターンに対応したバレルと呼ばれるカラム様の構造が存在し、神経細胞や軸索などがバレルのパターンに対応して配置されている。バレルネットはバレル野2/3層神経細胞の軸索が4層でつくる軸索構築で、バレル野4層のセプタ領域と呼ばれる部位に集積して、バレルを取り囲むような形で分布している(図1, GFP左)。バレルネットが子宮内電気穿孔法により比較的容易に可視化できること、また同じ方法を用いて遺伝学的な操作を行なうことも可能であることから、私はバレルネットが皮質内局所回路の形成メカニズム解析のモデル系として有用なのではないかと考えた。

バレルネット形成に関わる分子の候補として、本研究では古典的カドヘリンを用いた。過去の文献から、様々な種類の古典的カドヘリンがバレル野に発現していることが知られていたこと、また、その特性(同種のカドヘリン同士が結合する)から、選択的な神経回路の形成にカドヘリンが重要である可能性が提案されてきたためである。



(3)バレルネット形成における古典的カドヘリンの役割の解析

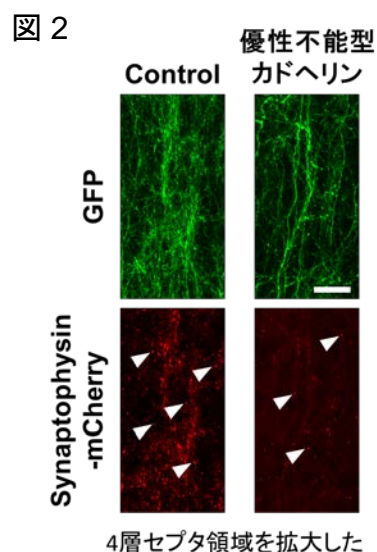
本研究では、子宮内電気穿孔法を用いて2/3層神経細胞選択的に古典的カドヘリンの機能を抑制した。様々な種類の古典的カドヘリンがバレル野2/3層に発現しているため、種類を問わずカドヘリンの機能

を抑制できるよう優性不能型カドヘリンを用いた。その結果、優性不能型カドヘリンを発現した個体においてバレルネットのパターンが失われることを見出した(図 1, GFP 右)。共焦点顕微鏡を用いた観察の結果から、2/3 層由来軸索の本数がセプタ領域で減少していることを見出された。

(4)軸索伸長、シナプスへの影響

バレルネット形成の抑制という表現型は、軸索伸長の阻害あるいは軸索分枝形成の阻害に起因する間接的なものである可能性があった。そこでこれらの可能性について組織切片および初代培養を用いて検討したが、軸索の長さあるいは分枝形成に対して、優性不能型カドヘリンの有無による有意な差は見出されなかった。

さらに、バレルネットが失われたことによる回路機能面への影響を評価するために、2/3 層由来軸索上に存在するシナプスへの影響も検討した。その結果、優性不能型カドヘリンと synaptophysin-mCherry を発現させた 2/3 層神経細胞では、synaptophysin-mCherry の粒の数がセプタ領域で減少していることを見出した (図 2)。この結果は、カドヘリン機能の阻害が単にバレルネット軸索の形成を阻害するだけでなく、2/3 層軸索の回路機能にも影響を及ぼすことを示唆している。



(5)本研究のまとめ

以上のように、私はバレルネットをモデル系として大脳皮質内の局所神経回路の形成に古典的カドヘリンが必要であることを明らかにした。今まで、海馬や脳幹部など皮質下の神経回路形成におけるカドヘリンの重要性は示唆されていたが、大脳皮質の局所神経回路形成におけるカドヘリンの役割について明らかにしたのは私の知る限り本研究が初めてである。子宮内電気穿孔法により優性不能型カドヘリンを選択的に導入する、という方法を応用することにより、他の皮質内神経回路のパターン形成におけるカドヘリンの役割についても明らかにすることができる可能性がある。