

平成21年2月

渡邊佳奈 学位論文審査要旨

主査 渡邊達生
副主査 押村光雄
同 畠義郎

主論文

Experience-driven axon retraction in the pharmacologically inactivated visual cortex does not require synaptic transmission

(薬理的に活動を抑制した大脳皮質における経験依存的な軸索退縮はシナプス伝達を必要としない)

(著者：渡邊佳奈、森島佑、樋川正仁、畠義郎)

平成21年 PLoS ONE 4巻 e4193

学 位 論 文 要 旨

Experience-driven axon retraction in the pharmacologically inactivated visual cortex does not require synaptic transmission

(薬理的に活動を抑制した大脳皮質における経験依存的な軸索退縮はシナプス伝達を必要としない)

大脳皮質の神経回路は、経験による再編成を経て成熟する。一次視覚野においては、視床の外側膝状体からの入力軸索が、視覚経験依存的な再編成を起こすことが知られている。これまでに、一次視覚野の神経活動を、抑制性伝達物質GABAのA型受容体作動薬であるムシモールで抑制すると、入力軸索が顕著に退縮するが、その時に視覚入力を遮断しておくとも退縮は起こらないことが報告されている。このことから、入力軸索の活動が、軸索退縮機構に重要であることが示唆される。しかし、ムシモールは皮質ニューロンの活動電位発生を抑制するが、入力軸索からの神経伝達物質の放出を阻害しないため、シナプス伝達を介した局所的なシナプス後細胞への作用が、軸索退縮に関与する可能性も考えられる。そこで、シナプス伝達を薬理的に阻害することによって、抑制皮質での軸索退縮にシナプス伝達が必要であるかどうかを検討した。

方 法

実験には発達期（6週齢）のラット及びネコを用いた。シナプス伝達を阻害するため、神経伝達物質放出に必須であるSNAP-25を特異的に切断するボツリヌス毒素E型を視覚野に投与した。ボツリヌス毒素の投与条件はラットを用いて検討した。視覚野にボツリヌス毒素を投与した後、視覚野の神経活動への影響を電気生理学的に評価し、さらに、視覚野の組織サンプルを用いて、ウェスタンブロット法によりSNAP-25の切断を評価した。一方、軸索の形態解析はネコを用いて行った。視覚野にボツリヌス毒素を投与するとともに、外側膝状体へ順行性トレーサーを投与し、投射軸索を標識した。8匹中3匹のネコでは、両眼の眼瞼縫合を行い視覚入力を遮断した。1週間の生存期間の後、視覚野の神経活動を記録し、ボツリヌス毒素の効果範囲を特定した。脳組織を固定、薄切し、組織染色法により連続切片標本を作製した。ニューロン形態解析ソフトウェアを用いて、効果範囲内にある軸索の形態を3次元的に再構築し、軸索長と分岐点の数を指標に、軸索形態を定量的に評価した。

結 果

視覚野におけるボツリヌス毒素の効果をラットを用いて検討した結果、ボツリヌス毒素によるSNAP-25の切断は、投与後1日と1週間では認められたが、2週間では認められなかった。また、ボツリヌス毒素投与後1週間の視覚野で神経活動を記録したところ、視覚反応や自発発火が消失していた。さらに、ボツリヌス毒素による神経活動の抑制を、神経活動のマーカーとしてよく用いられるEgr-1の発現で確認した。ボツリヌス毒素投与動物のEgr-1の発現量は、正常動物と比較して有意に減少していた。以上の結果より、ボツリヌス毒素の効果が、視覚野において投与後1週間持続することを確認した。

ボツリヌス毒素投与後1週間のネコの視覚野において、投与箇所周辺では、ラットの結果と同様に視覚反応は認められず、さらに、Egr-1の免疫組織化学法で神経活動が抑制されていることを確認した。神経活動が抑制されていた視覚野領域に位置していた入力軸索の形態を解析したところ、健常眼由来の軸索は、遮蔽眼由来の軸索よりも、軸索長が有意に短く、分岐点の数も有意に減少していた。さらに、健常眼由来の軸索は、ボツリヌス毒素を投与した時点での軸索よりも有意に短く、分岐点も少なかったことから、発達に伴う軸索伸長が阻害されたのではなく、軸索が退縮したと考えられる。以上の結果より、ボツリヌス毒素による抑制皮質では、健常眼由来で視覚情報を伝える軸索は有意な退縮を示し、遮蔽眼由来で視覚情報を伝えていない軸索は退縮しないことが示された。これは、ムシモールを投与した先行研究の結果と一致する。従って、抑制皮質における経験依存的な軸索退縮機構には、シナプス伝達は関与しないことが明らかとなった。

考 察

ボツリヌス毒素によってシナプス伝達を阻害した視覚野において、経験依存的な軸索退縮が起こるといふ本研究の結果より、シナプス伝達を介する局所的なメカニズムが、軸索退縮機構に関与する可能性は否定された。すなわち、軸索退縮機構はシナプス前部に存在すると考えられる。その機構として、シナプス前部の活動の細胞内シグナルに変換する電位感受性カルシウムチャンネルや、交感神経などの軸索退縮を制御することが報告されている神経栄養因子の受容体P75のように、活動依存的な反発性の分子の関与が考えられる。

結 論

本研究では、抑制皮質における経験依存的な軸索退縮にシナプス伝達は不要であるということを示した。このことは、外側膝状体軸索の経験依存的な再編成に、シナプス前部のメカニズムが重要な役割を果たしていることを示唆している。