

平成25年 1月

米田泰輔 学位論文審査要旨

主 査 渡 邊 達 生
副主査 竹 内 隆
同 畠 義 郎

主論文

Developmental and visual input-dependent regulation of the CB1 cannabinoid receptor
in the mouse visual cortex

(マウス視覚皮質におけるCB1カンナビノイド受容体の発達および視覚入力依存的調節)

(著者：米田泰輔、亀山克朗、江角和沙、大明洋平、渡辺雅彦、畠義郎)

平成25年 PLoS ONE 8巻 e53082

学位論文要旨

Developmental and visual input-dependent regulation of the CB1 cannabinoid receptor in the mouse visual cortex

(マウス視覚皮質におけるCB1カンナビノイド受容体の発達および視覚入力依存的調節)

神経回路の形成には経験が重要な役割を果たす。例えば哺乳類の脳皮質一次視覚野神経細胞は、生後発達の初期に片眼の視覚入力を遮断すると、遮蔽眼に対する神経細胞の反応性を失い、その個体は弱視になることが知られている（眼優位可塑性）。近年齧歯類を用いてこの眼優位可塑性の分子メカニズムの研究が精力的に行われている。

内因性カンナビノイドシステムは、中枢神経系において逆行性にシナプス伝達を抑制する調節系として知られており、発達期視覚野での眼優位可塑性への寄与が報告されている。しかし視覚野における発現や分布の詳細と、生後発達や視覚経験の寄与は不明である。本研究はカンナビノイド受容体CB1に注目し、マウス視覚野における発現や分布への発達、視覚経験の影響を検討した。

方法

生後10日齢から100日齢のマウスを用いた。CB1の発現への視覚入力の寄与を明らかにするために、一群の動物は出生直後から30日齢、または50日齢まで暗所で飼育した。また眼瞼縫合により、生後27-29日齢から2日間または22-24日齢から7日間、片眼の視覚入力を遮断した。これらの動物の視覚野において、ウェスタンブロット、免疫染色法によりCB1タンパクの発現解析を行った。

結果

まず視覚野におけるCB1の分布と局在を調べた。CB1は一次視覚野(V1)よりも二次視覚野での発現が強く、視覚系視床核である外側膝状体では発現がほとんど観察されなかった。眼優位可塑性の感受性期である生後30日齢のマウスを解析すると、CB1はV1のII/III、VI層に多く分布することが明らかになった。また神経細胞の樹状突起マーカーであるMAP2、シナプス前終末のマーカーであるsynaptophysinとの多重免疫染色法により、CB1はシナプス前終末に局在することが明らかになった。CB1が局在するシナプス終末の種類を同定するために抑制性神経終末のマーカーである小胞性GABAトランスポーター、興奮性神経終末の

マーカーである小胞性グルタミン酸トランスポーター1および2との多重免疫染色を行ったところ、CB1が層を問わず主に抑制性神経終末に局在することが明らかになった。

発達期の可塑性への寄与を検討するために様々な日齢のマウスを用いて解析した結果、V1におけるCB1タンパク発現は、発達に伴って生後100日齢まで増加することが明らかになった。また、II/III、VI層に多く分布するパターンは生後20日齢で形成され、生後100日齢まで維持された。

この発達に伴うCB1発現増加に対する視覚経験の寄与を検討するために、マウスを出生直後から生後30日齢まで暗所で飼育したところ、CB1発現の有意な減少が観察された。またこの時、深部層においてCB1の抑制性神経終末への局在の増加と、興奮性神経終末への局在の減少が観察された。

CB1発現の眼優位可塑性への寄与を検討するために、感受性期のマウスに片眼遮蔽を行い片眼の視覚入力を剥奪した。2日間、7日間の片眼遮蔽により、V1でのCB1タンパク量、層分布には顕著な変化は観察されなかったが、深部層におけるCB1の抑制性神経終末への局在が2日間の片眼遮蔽で一過性に増加した。

考 察

CB1のII/III、VI層に多い層分布パターンは生後20日齢で発現し、それが100日齢まで維持された。生後20日齢はV1の感受性期の開始付近であることから、CB1は感受性期の開始に寄与していることが考えられる。また生後30日齢までの暗所飼育によりCB1発現量が減少したことから、CB1の発達に伴う発現変化には、視覚入力が増進的な役割を果たしていることが示唆される。V1の深部層においてCB1のシナプス局在は暗所飼育と2日間の片眼遮蔽によって変化が生じたことより、深部層のCB1発現は視覚入力に強く影響を受けることが考えられる。

結 論

カンナビノイド受容体CB1はマウス一次視覚野において、II/III、VI層に多く分布しており、多くは抑制神経終末に局在していた。CB1は発達依存的に発現や分布の変化を示し、この変化には視覚入力が増進的な役割を果たしていることが明らかになった。CB1は発達、視覚経験依存的に発現や分布が変化し、それがV1での発達期可塑性に寄与している可能性が示唆された。