

## 学内グラント 報告書

## 平成24年度 学内グラント終了時報告書

## 発達期体性感覚野スパイクタイミング可塑性における BDNF の役割

研究代表者 伊丹 千晶 (医学部 生理学)

## 緒言

神経の活動(入力)依存的変化(可塑性)は、神経回路形成、学習、記憶の基本メカニズムに重要な役割を果たすと考えられている。出生直後の神経回路には、過剰な投射が存在するが、これらは発達過程において活動依存的に、必要な投射の強化と不要な投射の除去により成熟した神経回路が形成される。発達期の可塑的な時期を臨界期と呼ぶが、臨界期の可塑性は、臨界期以後の脳機能に多大な影響を与える。たとえば、遺伝性の脆弱性X染色体連鎖症候群、また自閉症、ADHD(注意欠陥多動性障害)などの発達障害は、投射の刈り込みの異常に起因する可能性が推定されている。本研究では、発達期の神経投射の刈り込みのメカニズムを調べた。

## 材料と方法

投射刈り込みの仕組みを調べるために、定量的な解析が可能なマウスの大脳皮質体性感覚野を用いて、皮質2/3層細胞(L2/3)への、4層細胞(L4)と視床からの投射を調べた。齧歯類体性感覚野では、生後第2週(生後7日～)から3週にかけて、L4細胞はL2/3細胞へと投射を伸長するが、この時、皮質に特徴的なカラムを無視して、隣接カラムへの投射も見られる(過剰投射)。ところが、生後3週目(生後14日)以降、神経活動依存的に、隣接カラムへの投射は刈り込まれ、成熟したカラム状投射の形成が導かれる事が知られている。私たちは、どのようなメカニズムによって、過剰なL4細胞の投射がカラム状投射に編成されるのか、電気生理学および解剖学的手法を駆使して調べた。

実験は、生後7日から25日目のC57BL/6マウスより作製した視床(後内側腹側核)―第1次体性感覚野皮質間連絡線維を保持した急性切片標本(thalamocortical slice)を用いて行った<sup>1)</sup>。刺激電極を入力線維(視床または皮質4層)に置き、皮質第2/3層の興奮性細胞(錐体細胞)からパッチクランプ法を用いて、刺激

により誘発されるシナプス電位を電流固定下で記録した。まず細胞内通電による発火特性を調べ、興奮性細胞であることを確認した。実験後、記録細胞を形態学的に解析する目的で、電極内にはニューロビオチンを封入した。

## 結果および考察

## スパイクタイミング依存性可塑性

体性感覚野の可塑性発現には、皮質第4層から皮質第2/3層への投射(L4→L2/3)が重要な役割を果たすと考えられているが、この投射は、生後2週目において過剰な投射が形成され、臨界期(生後12日目～14日以降)には、活動依存的な「投射の刈り込み」がおこる。一方で、長期増強(LTP)や長期抑圧(LTD)等の可塑的变化が軸索投射の編成をもたらすことは広く知られているが、このL4→L2/3投射の刈り込みには、可塑性の方向と程度がシナプス前細胞(L4細胞)とシナプス後細胞(L2/3細胞)の正確な発火タイミングに依存する、スパイクタイミング依存性可塑性(STDP: spike timing-dependent plasticity)のうち、ポスト-プレタイミング刺激による長期抑圧LTDが重要であると考えられている<sup>2)</sup>。以前、我々は、生後2週目のL4→L2/3において、従来のSTDPとは異なり、発火順序に無関係にLTPだけが誘導されるSTDP-LTPであり、このような可塑性の下では過剰な軸索形成が起こる可能性を示した<sup>3)</sup>。

## スパイクタイミング依存性長期抑圧STDP-LTDにはCB1Rが必要である

大麻の有効成分であるカンナビノイドCBは、近年、脳内に広範に分布する逆行性の神経伝達物質として注目を受けた<sup>4)</sup>。一方、4層から2/3層間(L4→L2/3)におけるSTDP-LTDは、CB依存性であることが知られていた<sup>5)</sup>。上述のように、生後2週目の動物ではL4→L2/3間投射には従来とは異なるSTDPが発現し、LTDが見られないことを明らかにしたが、STDP-LTDの欠落は、L4→L2/3投射におけるカンナビノイド受容体CB1が発現していないことによるものであることを

電気生理実験, および組織免疫実験により示した。これらの結果は, P14以降にL4神経終末が「CB感受性を獲得することによってLTDを発現し, これによりカラムを超えた投射の刈り込みがおこる」ことを示した。

#### 視床からL2/3への投射線維のスパイクタイミング依存性長期抑圧STDP-LTD

視床からの投射線維は皮質第4層に投射されるが, 生後初期では皮質2/3層まで広がっており, その後の刈り込みによりL4に次第に限局されてくることを見出した。また, この時期(P9-12)にはL4→L2/3におけるSTDPとは逆向きのSTDPが視床-2/3層間シナプスに誘導されることを見出した。これはタイミング依存的にLTDだけが誘導され, さらにプレ, ポストの時間差が近いほどLTDの程度が強いものであった。またこのSTDP-LTDもCB依存性であった。従って, 前述の視床→L2/3への過剰投射も, CB依存性にLTDを介して刈り込まれる可能性が推定され, STDP-LTDが, L4→L2/3投射の形成に重要な役割を果たすと考えられる。

以上より神経回路形成には複数の可塑性が関与しており, 可塑性の障害は回路形成に混乱をもたらす可能性が高い。従って, そのメカニズムを明らかにし, 制御することが可能となれば, 学習, 記憶を制御する薬物の開発等も視野に入ることが期待され, さらにはリハビリテーション時の効果的投薬の開発などにも発展すれば, 社会的貢献が期待できる。

#### 引用文献

- 1) Itami C, Samejima K, Nakamura S. Improved data processing for optical imaging of developing neuronal connectivity in the neonatal mouse barrel cortex. *Brain Res Brain Res Protoc* 2001;7:103-14.
- 2) Feldman DE. Timing-based LTP and LTD at vertical inputs to layer II/III pyramidal cells in rat barrel cortex. *Neuron* 2000;27:45-56.
- 3) Itami C, Kimura F. Developmental switch in the spike timing-dependent plasticity at layers 4-2/3 in the rodent barrel cortex. *J Neurosci* 2012;32:15000-11.
- 4) Hashimoto-dani Y, Ohno-Shosaku T, Tsubokawa H, Ogata H, Emoto K, Maejima T, Araishi K, Shin HS, Kano M. Phospholipase Cbeta serves as a coincidence detector through its Ca<sup>2+</sup> dependency for triggering retrograde endocannabinoid signal. *Neuron* 2005;45:257-68.
- 5) Bender VA, Bender KJ, Brasier DJ, Feldman DE. Two coincidence detectors for spike timing-dependent plasticity in somatosensory cortex. *J Neurosci* 2006;26:4166-77.

#### 研究成果リスト

##### 論文

- 1) Adachi N, Numakawa T, Kumamaru E, Itami C, Chiba S, Iijima Y, Richards M, Katoh-Semba R, Kunugi H. Phencyclidine-induced decrease of synaptic connectivity via inhibition of BDNF secretion in cultured cortical neurons. *Cerebral Cortex* 2013;23:847-58.
- 2) Itami C, Kimura F. Developmental switch in the spike timing-dependent plasticity at layers 4-2/3 in the rodent barrel cortex. *J Neurosci* 2012;32:15000-11.

##### 学会発表

- 1) Itami C, Kimura F. Cooperative heterosynaptic interaction of spike timing-dependent plasticity in the developing barrel cortex, 42<sup>th</sup> Annual meeting of society for Neuroscience, October 2012, USA
- 2) 中尾啓子, 伊丹千晶, 山田真弓, 木村文隆. 子宮内電気穿孔法により遺伝子導入された大脳皮質体性感覚野抑制性神経細胞の電気生理学的・神経化学的解析, 第35回日本神経科学大会, 平成24年9月, 名古屋
- 3) 木村文隆, 伊丹千晶. 発達期バレル皮質2/3層錐体細胞への2つの異なるスパイクタイミング依存性可塑性とその相互, 第35回日本神経科学大会, 平成24年9月, 名古屋
- 4) Kimura F, Itami C. Developmental switch in the spike-timing dependent plasticity contributes to the initiation of the critical period in the barrel cortex, The 8th FENS Forum of Neuroscience, July 2012, Spain