



本件の取り扱いについては、下記の解禁時間以降でお願い申し上げます。

新聞：日本時間 平成 26 年 3 月 28 日（金）朝刊

テレビ・ラジオ・インターネット：日本時間 平成 26 年 3 月 28 日（金）午前 1 時

## 世界初 新生児の大脳皮質で神経回路が成長する様子を観察することに成功 － 赤ん坊の脳の発達に迫る新たなアプローチ －

### <本研究成果のポイント>

- ・ 新生児の大脳皮質で神経回路が成長する様子を直接観察することに成功した。
- ・ 新生児マウスの大脳皮質の神経細胞は突起を激しく伸ばしたり縮めたりしていた。
- ・ ヒトの赤ん坊の脳の発達メカニズムの解明にもつながる重要な一歩。

### <概要>

ヒトの脳表面の大部分を占める大脳皮質は、哺乳類に特有の脳構造です。大脳皮質には複雑な「神経回路」があり、これによって、知覚や運動、思考、記憶などの高度な情報処理が行われています。大人  
の神経回路は精密につくられていますが、生まれた時は未熟でおおまかにしかできていません。赤ん坊  
の脳では、様々な刺激をうけて神経回路が劇的に成長します。しかし、そのプロセスやメカニズムは、  
適当な観察・解析技術がなかったため今までほとんどわかっていませんでした。

当研究グループでは、生まれて間もないマウスの大脳皮質の神経回路を可視化する方法を開発しまし  
た。さらに、生きたまま脳の深部までとらえることのできる二光子顕微鏡の観察技術の改良もはかりま  
した。これらの新しい技術を組み合わせることで、新生児大脳皮質の神経回路が成長する様子を直接観  
察することに、世界で初めて成功しました。

その結果、新生児マウス大脳皮質の神経細胞は突起を激しく伸び縮みさせながら、結合すべき「正し  
い」相手に向かって突起を広げていくことがわかりました。一方、遺伝子操作によって情報をうまく受  
け取れなくした神経細胞では、突起の伸び縮みの程度が異常に大きくなり、「正しい」相手の有無と関  
係なくランダムに突起が広がりました。

この研究では、新生児の大脳皮質で神経回路が発達するときの正常な過程と異常な過程を直接観察す  
ることに初めて成功しました。この新しいアプローチは、ヒトをはじめとする哺乳類の赤ん坊の脳の発  
達メカニズムの理解に大きく貢献することが期待されます。

本研究成果は、日本時間平成 26 年 3 月 28 日午前 1 時に、米国科学誌 *Neuron* オンライン版に先行掲  
載されます。

論文： NMDAR-Regulated Dynamics of Layer 4 Neuronal Dendrites during Thalamocortical  
Reorganization in Neonates.

著者： Hidenobu Mizuno, Wenshu Luo, Etsuko Tarusawa, Yoshikazu M. Saito, Takuya Sato, Yumiko  
Yoshimura, Shigeyoshi Itoharu, and Takuji Iwasato

## <研究の詳細>

哺乳類の脳の神経回路ができる機構を明らかにするためには、神経回路が最も劇的に発達する生まれたばかりの赤ん坊の脳の内部を生きたままで観察することが重要です。ところが、そのための適当な技術がなく、これまで新生児脳で神経回路がつくられる実際の様子を見た人はいませんでした。

今回、私たちは、新生児マウスの大脳皮質の神経回路を生きたままで観察するために2つの新しい手法を開発しました。1つは、「スーパーノバ法」(注1)と名付けた大脳皮質神経細胞を明るく、かつ「まばら」に赤色蛍光蛋白質(RFP)で標識する方法です。もう1つは、「視床-皮質軸索」(後述)を緑色蛍光蛋白質(GFP)で標識する方法(注2)です。さらに二光子顕微鏡(注3)による観察法を改良し、これらの手法を組み合わせることで、新生児マウスの大脳皮質の奥深くを生きたままで直接観察することに成功しました。

私たちが研究モデルとして使ったのは、マウスの大脳皮質にある「体性感覚野」という領域です。ヒゲからの感覚情報(体性感覚)は、まず脳の深部にある脳幹、そして、視床へと送られ、視床から伸びる「視床-皮質軸索」によって、脳の表面にある大脳皮質の体性感覚野へと伝えられます(図1)。マウス体性感覚野には「バレル(樽)」(注4)と呼ばれる構造がありますが、視床-皮質軸索の末端はそれぞれのヒゲに対応するバレルの内側(樽の中)に固まりを作ります。一方、感覚情報を受け取る神経細胞はバレルの縁に配置します。そして、神経細胞はバレル内側に向かって突起(樹状突起)を伸ばして軸索末端とシナプスをつくっています(図1)。こうして、それぞれの神経細胞は「正しい」相手とつながっています。このような精密な神経回路があるお陰で、マウスは1本1本のヒゲからの情報を区別することができるのです。

今回の実験では、生後4日目あるいは5日目の新生児マウスの脳で9時間あるいは18時間にわたって、同じ細胞を観察しました(図2)。新生児の大脳皮質では、神経細胞の樹状突起は活発に伸び縮みを繰り返しながら、全体として、結合すべき正しい視床-皮質末端軸索の末端のあるバレル内側に向かって伸びていきました。一方、遺伝子操作によりNMDA型グルタミン酸受容体(注5)の働きを抑え、情報をうまく受け取れなくした神経細胞では、樹状突起の伸び縮みは異常に激しくなりました。また、全体として正しい軸索の方向(バレルの内側)と無関係にランダムな方向に伸びることがわかりました(図3)。

このような観察結果から、新生児大脳皮質の神経細胞は、樹状突起を活発に伸び縮みさせながら、正しいシナプスをつくる相手を探していることが考えられます。また、NMDA受容体は正しい軸索とシナプスをつくった樹状突起を安定させて、正常な脳神経回路の形成を行っていると考えられます。

今回、近年の脳科学研究で大きな威力を発揮している二光子顕微鏡観察と、新たに開発した手法を組み合わせることで、新生児マウスの大脳皮質で神経回路が正しく作られる過程と正しく作られない過程の両方を直接観察することに初めて成功しました。

私たちは現在、さまざまな関連技術を開発しながら、観察技術のさらなる向上に取り組んでいます。今後それらを用いて、哺乳類の新生児の大脳皮質の中で何が起きているかを、さらに明らかにしたいと考えています。

## <解説>

### 注 1： スーパーノバ法

新しく開発した「神経細胞をまばらに標識」する方法。従来法で神経細胞を標識すると、高密度になって神経細胞の様子が見えづらい。スーパーノバ法でまばらに標識することによって 1 個 1 個の神経細胞の形をはっきりと見ることができる。また、スーパーノバ法を特定の遺伝子組み換えマウスと組み合わせれば、蛍光標識された細胞でのみ、目的の遺伝子のはたらきをおさえる（ノックアウトする）こともできる。したがって、神経細胞の観察と同時に分子メカニズムを調べることができる。

（細胞内部での蛍光タンパク質発現の爆発的な増幅により）非常に明るく光り、（ある種の遺伝子操作を行ったマウスと組み合わせることで）細胞内部で遺伝子が破壊されることからの連想で、スーパーノバ（超新星）法と名付けた。

### 注 2： 視床一皮質軸索を緑色に蛍光標識する方法

視床の神経細胞に膜移行型の緑色蛍光タンパク質（GFP）を発現するトランスジェニックマウスを作ることによって、視床から大脳皮質にのびる軸索（視床一皮質軸索）を緑色に蛍光標識した（図 1）。

### 注 3： 二光子顕微鏡

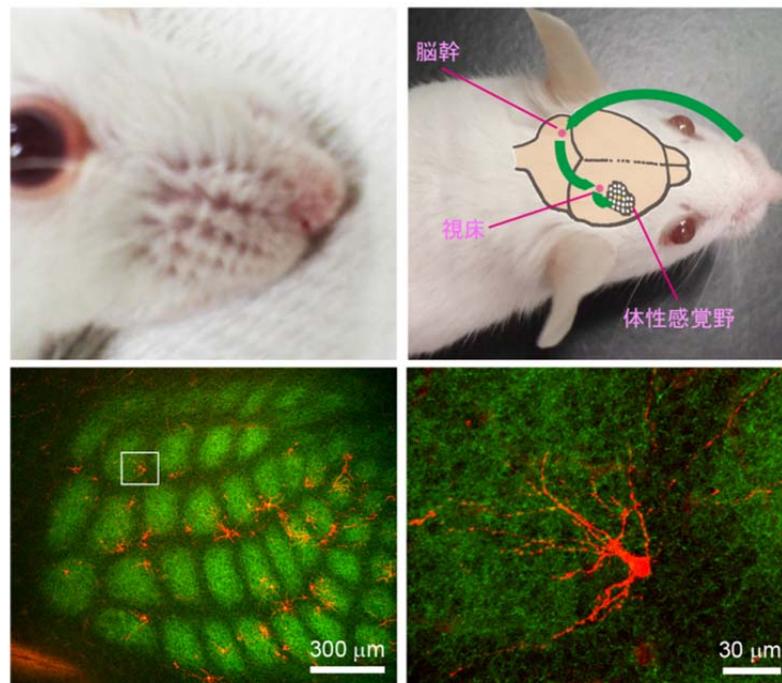
生きている動物の脳の中を観察することのできる顕微鏡。赤外線レーザーを使用することで脳深部の蛍光物質を光らせ、その蛍光シグナルを得ることができる。従来は主に成体動物で用いられており、新生児マウスの脳を長時間観察したのは今回が初めて。小さな新生児マウスに使用するために様々な工夫を行った。

### 注 4： バレル

マウスの体性感覚野にみられる樽のような形をした構造。1 個のバレルは 1 本のヒゲに対応する（図 1 の左上と左下を参照：図 1 左下はバレルが並んでいるところを大脳皮質の表面側（樽の上側）からみたところ）。1 本のヒゲからの情報を伝えるすべての視床一皮質軸索の末端は 1 つのバレルの内側（樽の中）に集まる（図 1 左下）。大脳皮質の神経細胞はバレルの縁（樽の壁）にある（図 1 左下）。そして、その神経細胞は樹状突起をバレル内側に伸ばし（図 1 右下）、視床一皮質軸索とシナプスを作る。このバレル構造によって、1 個の神経細胞には 1 本のヒゲからの情報だけが入ることになり、マウスは 1 本 1 本のヒゲからの刺激を区別することができる。

### 注 5： NMDA 型グルタミン酸受容体（NMDA 受容体）

神経細胞軸索の末端から放出されるグルタミン酸という神経伝達物質を、樹状突起側で受け取る受容体の 1 つが NMDA 受容体。NMDA 受容体は神経回路の成熟、記憶、学習など脳の高次機能に深くかかわっている。



大脳皮質の体性感覚を処理する神経回路の蛍光標識

図 1

(左上) 夜行性の動物であるマウスのヒゲはヒトにおける目に匹敵する重要な感覚器です。

(右上) ヒゲからの触覚情報は脳幹と視床のシナプスを介し、「視床—皮質軸索」によって、大脳皮質の体性感覚野に伝わります。

(左下) 大脳皮質の体性感覚野にはヒゲ 1 本 1 本に対応した「バレル」と呼ばれる構造があります。ヒゲの入力を大脳皮質に伝える視床—皮質軸索の末端はバレルの内側に固まりを作ります。一方、大脳皮質の神経細胞はバレルの縁にあって樹状突起をバレルの内側に配置します。今回の研究では、視床—皮質軸索を緑色蛍光タンパク質で、大脳皮質の神経細胞の樹状突起を赤色蛍光タンパク質で標識しています。(1 個のバレルの縁には千個ほどの神経細胞がありますが、そのうちのごく一部だけをスーパーノバ法で赤色に標識しています。)

(右下) 左下図の四角部分の拡大図。大脳皮質神経細胞の樹状突起 (赤色) はバレル内側 (緑色) にだけ伸びていることがわかります。樹状突起がこのような形をとることによって、1 個の神経細胞には 1 本のヒゲからの情報だけがはいり、マウスは 1 本 1 本のヒゲからの情報を区別することができます。こうした樹状突起の特徴的な形ができる過程を今回の研究で明らかにしました。

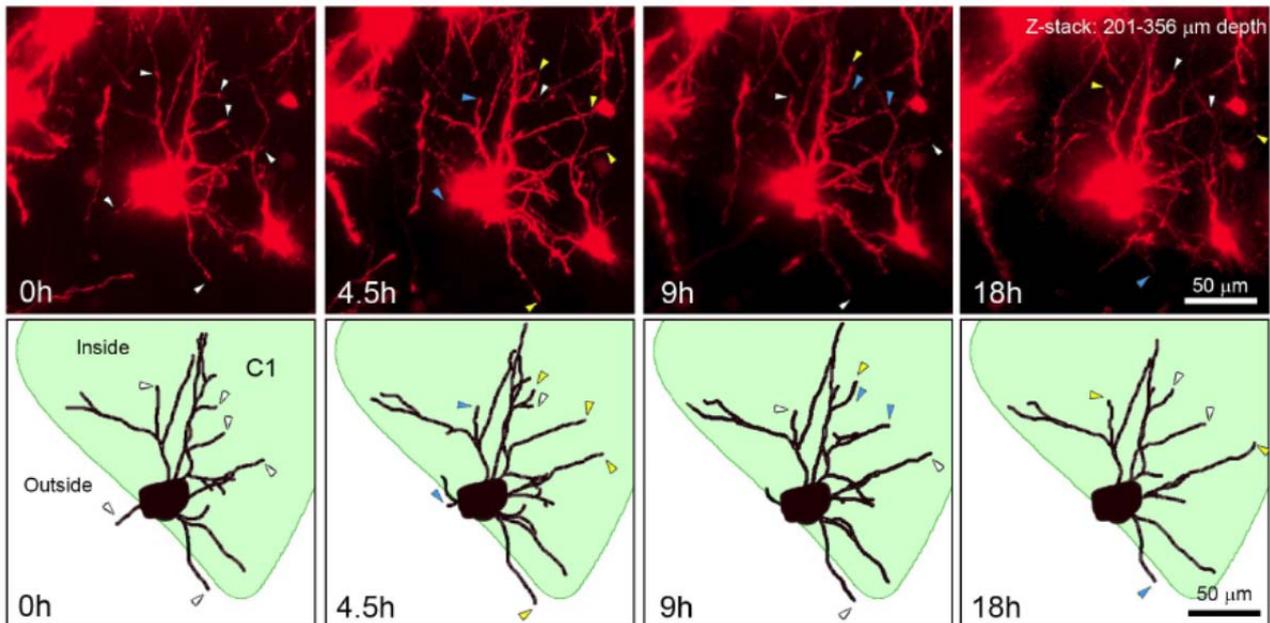


図 2

二光子顕微鏡によって観察した大脳皮質神経細胞が正常に成熟する様子。樹状突起の先端（矢頭）が伸び縮みしていることがわかります。（0h の白色の矢頭：最初の枝の先端の位置。4.5h, 9h, 18h の白の矢頭：変化しなかった枝。黄色の矢頭：伸びた枝。青色の矢頭：縮んだ枝。下図の緑色の部分はバレル内側。）18 時間に 4 回（生後 5 日目、4 時間半後、9 時間後、18 時間後）マウスを顕微鏡のところに持ってきて同じ細胞を観察しています。1 回の観察は 30 分ほどです。残りの時間にはマウスはミルクを与えられ兄弟姉妹とともに健康に成長しています。

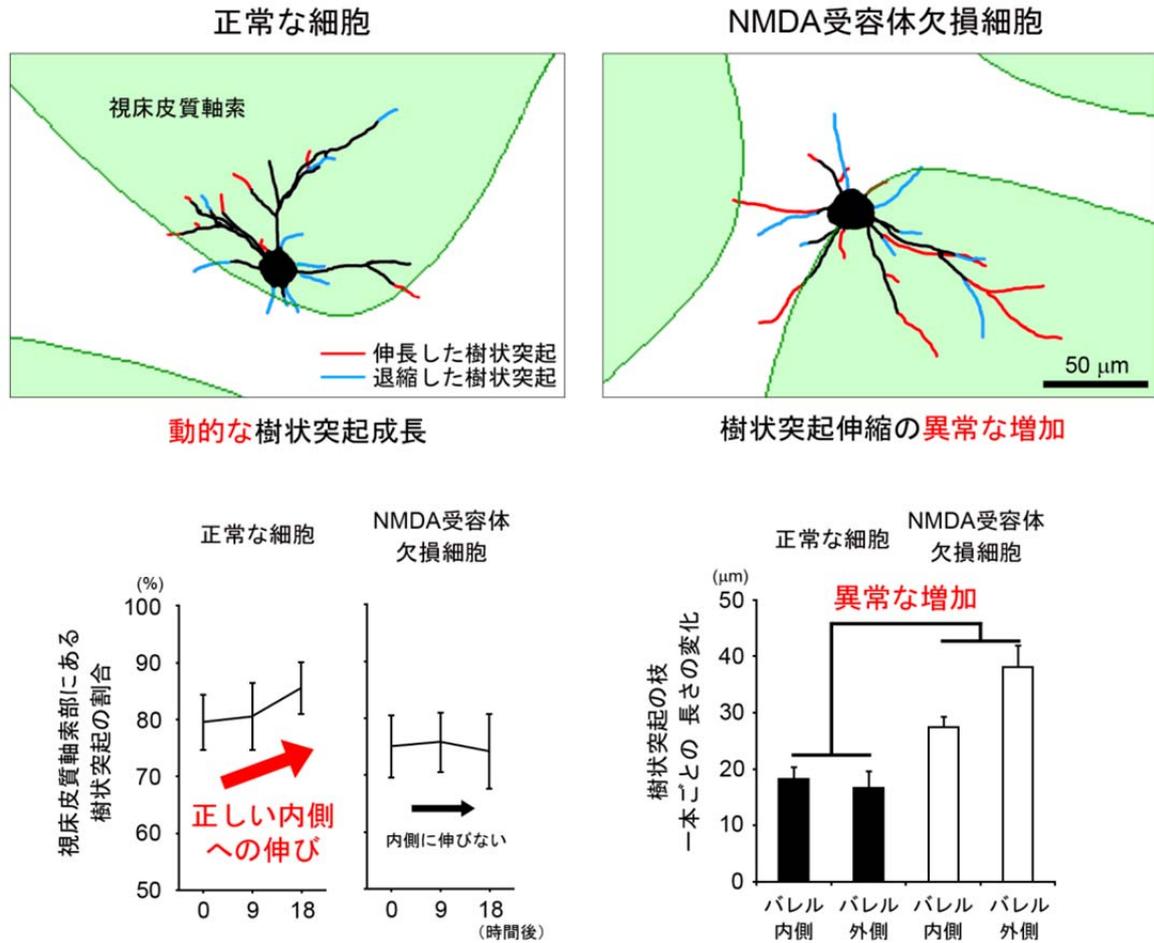


図 3

樹状突起の枝の 18 時間の変化 (伸縮) を定量的に解析しました。正常な神経細胞では、樹状突起の個々の枝には 18 時間で伸びたものと縮んだものがありましたが (左上)、全体として視床—皮質軸索の固まりのあるバレル内側方向 (上図の緑色部分) に広がっていくことがわかりました (左下: 正常な細胞)。NMDA 受容体のはたらきを抑えた細胞では、樹状突起の伸縮の絶対値が大きくなり (右上と右下)、全体として軸索のある方向と無関係にランダムに伸びました (左下: NMDA 受容体欠損細胞)。

< 研究体制と支援 >

本件は、国立遺伝学研究所 (水野秀信、羅ブンジュウ、佐藤拓也、岩里琢治) と理化学研究所脳科学総合研究センター (斎藤芳和、糸原重美)、生理学研究所 (足澤悦子、吉村由美子) との共同研究の成果です。

また、新学術領域研究「メゾ神経回路」の支援により行われ、一部は、内藤記念科学振興財団、上原記念生命科学財団、三菱財団、山田科学振興財団、FIRST プログラム、新学術領域研究「分子行動学」、萌芽研究、若手研究 (B) の支援により行いました。

< 問い合わせ先 >

国立遺伝学研究所 個体遺伝研究系 形質遺伝研究部門  
教授 岩里琢治

国立遺伝学研究所 広報室  
室長 鈴木睦昭