

神経回路発達研究チーム

Laboratory for Neuronal Circuit Development

チームリーダー ヘン シュ 貴 雄

HENSCH, Takao K.

脳は経験により形づくられる。ある特有な発達「臨界期」に限り、視覚経験が左右の眼からの入力間の競合を引き起こし、大脳新皮質の神経結合の機能的および構造上の精緻化を推進する。当研究チームでは、この神経活動に依存した可塑性の細胞および分子メカニズムを突き止めようとしている。最近、薬理学的手法と遺伝子欠損マウスを用いて、この臨界期に抑制性伝達が不可欠であることを見いだしてきた。一方、視床-皮質神経回路のもう1つの主要機能は、睡眠-覚醒状態を引き起こすことである。つまり、レム睡眠やノンレム睡眠に伴った、脳内で発起したリズムは、視覚入力とは別の重要な入力形態である。我々は睡眠状態の出現を可塑性の臨界期と関連させて解析し、睡眠構造が視床-視皮質の可塑性をどのように反映するのかを調べている。

1. 視皮質可塑性の分子メカニズム (Fagiolini, 鄭, 侯賀, 岩井)

我々は、興奮と抑制のバランスが正常に発達したところで初めて臨界期における神経回路の可塑的な変化が可能になることをこれまでに明らかにしてきた。本年度は、少数で多種にわたる抑制性細胞群のどの結合が、臨界期における単眼遮蔽の感受性（視覚刺激を受け取ることによって生じる神経細胞の組換え）を支配しているかを詳細に検証した。

ベンゾジアゼピン薬は、神経細胞内のある限られた GABA_A 受容体の特定なアミノ酸に結合し抑制性伝達を制御する。遺伝子操作によりこの薬理学的感受性を1つ1つ取り除いた動物（ノックインマウス）を用いて、視覚刺激による可塑性の出現を調べた。正常なマウスでは、視覚領の神経細胞は左の目からの光刺激に良く応答するものと右の目からの光刺激に良く応答するものとが一定の割合で存在する。また、臨界期にないマウスでは、片目を覆って飼育する前と後でもこの割合は変化しないが、臨界期中のマウスでは、覆わなかった目からの光刺激に良く応答する神経細胞の割合が増加する。従って、臨界期前の若いマウスに薬物を投与すると同時に、片目を覆って数日間飼育し、早まって臨界期が出現することを比較した。

抑制性神経伝達の受け手である GABA_A 受容体（数十種類）のうち、 $\alpha 1$ サブユニットの機能を取り除いたノックインマウス以外では、開眼直後のジアゼパム投与で臨界期における可塑性が、通常のマウスに比べて10日早まって出現した。すなわち、抑制性の情報伝達によって神経の可塑性を司る特定の受容体（ $\alpha 1$ ）を初めて詳細に特定することに成功した。この成果は、今後の臨界期のメカニズムひいては脳の構成原理の解明の研究に新たな知見を与えるとともに、脳の正常な発達手法や再生・移植した脳組織を正常に機能させることへの可能性も期待される。生まれて間もない時期に、精神安定剤（ジアゼパム）を与えると可塑性が

一種の特有な結合を介して早まって出現することから、これらをヒトの幼児に採用する際に、抗てんかん効果と臨界期の出現への副作用を識別する、新しい薬剤開発の手掛りとなるであろう。また、脳他領域の臨界期を探るための候補となる細胞標的が具体化した。

2. 視皮質の発達における視床-皮質の相互作用 (Hensch, Atapour, 片桐, Scheuber, 槌本, 水口, 石井)

臨界期にあらゆる脳機能の神経回路網が集中的に形成される仕組みとして、一時的に高まる機能的（functional）可塑性と形態的（structural）可塑性に大別される。個々の細胞の電気的活動を記録すると機能的変化（視覚情報に細胞がどのように反応しているか）を知ることができる。最終的には形態的に神経回路網が作られて臨界期が終了されると考えられるため、抑制性伝達が脳の構造形成に及ぼす影響を詳しく調べた。大脳皮質において、似た性質を持った神経細胞が集まって、大脳皮質の表面に垂直な方向に伸びた領域（コラム）に固まって存在する。脳の第一次視覚野において、主に左目から入力を受ける細胞が集まって左目コラムをなし、主に右目から入力を受ける細胞が集まって右目コラムをなす。片方の眼球に色素を導入することにより、眼優位性コラムの縞模様構造を可視化することができる。これらを踏まえ、正常な視覚環境で育ったネコのコラム構造を、発達中に抑制性伝達を薬理学的に操作し、人工的に形づけることを試みた。

ネコやヒトのように前向きの眼から第一次視覚野への入力、ほぼ一対一の割合で眼優位性コラムとして観察される。正常な光環境で育った発達中の子ネコに、異なった作用を持つベンゾジアゼピン薬を大脳皮質に直接投与し、それぞれの薬を投与したネコで出現する眼優位性コラムの間隔の違いを正常なネコと統計的に比較した。この薬種には抑制性伝達を制御する作用があり、ジアゼパムのように GABA 伝達を推進するもの（アゴニスト）は抗てんかん剤、催眠鎮静剤、抗不安剤、自律神経剤、精神神経用剤としても用いられる。逆に、DMCM のように GABA 伝達を抑えるものもある（インパースアゴニスト）。臨界期中に DMCM を投与したネコでは、正常ネコと比較して眼優位性コラムの構造が縮小するのに対し、ジアゼパムを投与したネコでは通常より3割増、眼優位性コラムの間隔の違いが見いだされた。すなわち、大脳神経細胞の構成を人工的に制御することに世界で初めて成功した。

このように、生涯のうち1回しか出現しない臨界期中に、個人差を表す脳の基本構造が脳内抑制レベルを反映することは、コラムの形態が遺伝子によってあらかじめ決められているものではなく神経活動（経験）依存的に形成されることを強く支持した。また、ネコやマウスのように異なっ

た行動，視力や発達を示す動物種において，発達初期における脳内抑制の一般的な役割が確認された。今回の動物実験の成果はヒトの育成や治療への応用を示唆する。

3. 視皮質可塑性と睡眠発達（宮本）

可塑的变化を覚醒と睡眠中に継続測定するオンラインデータ収集解析システムを設置した。引き続き行動するマウスの第一次視覚野から慢性（テトロード）記録を行う。

Sensory experience shapes the mammalian brain during ‘critical periods’ of development. After even a brief period of monocular occlusion in early life, input to visual cortex from the closed eye is functionally weakened, then anatomically reduced in size. For the first time, we have achieved direct control over the timing of this classical plasticity by manipulating inhibitory (GABAergic) transmission. To further understand the cellular and molecular mechanisms that produce changes in connectivity within cortical circuits, we are pursuing the pharmacological or genetic disruption of candidate plasticity proteins using a mouse model. Moreover, we are investigating the interplay between visual experience-dependent plasticity and endogenous sleep rhythms emerging along the same thalamocortical circuits.

1. Molecular mechanisms of visual cortical plasticity

Weak inhibition within visual cortex early in life prevents experience-dependent plasticity. Loss of responsiveness to an eye deprived of vision can be initiated prematurely by enhancing GABAergic transmission with benzodiazepines. We used a mouse ‘knock-in’ mutation to α -subunits that renders individual GABA_A receptors insensitive to diazepam to show that a particular inhibitory network controls expression of the critical period. Only $\alpha 1$ -containing circuits were found to drive cortical plasticity, whereas $\alpha 2$ -enriched connections separately regulated neuronal firing. This dissociation carries implications for models of brain development and the safe design of benzodiazepines for use in infants.

2. Thalamocortical interactions in visual cortical development

The mammalian visual cortex is structurally organized into columns. We examined cortical influences upon developing visual afferents in the cat by altering intrinsic GABAergic inhibition with benzodiazepines. Local enhancement by agonist (diazepam) infusion did not perturb visual responsiveness but did widen column spacing. An inverse agonist (DMCM) produced the opposite effect. Intracortical inhibitory circuits, thus, shape the geometry of incoming thalamic arbors, suggesting that cortical columnar architecture depends upon neuronal activity.

3. Visual cortical plasticity and developing sleep states

Thalamocortical circuits process sensory input during waking and spontaneously generate complex patterns of neural activity characteristic of sleep. Moreover, at each stage along the pathway (retina, LGN, visual cortex), spontaneous synchronized activity is observed in well-organized fashion. Since manipulating visual input can be causally linked to physiological consequences *in vivo* (ocular dominance, perceptual learning) with less complex-

ity compared to other learning systems (e.g. hippocampal learning, amygdala fear conditioning, songbird learning, human procedural learning), we are establishing an on-line, chronic (tetrode) recording system for the mouse visual pathway. This enables us to trace neuronal events in different sleep stages and to test the relationship between sleep and cortical plasticity more directly.

Research Subjects and Members of Laboratory for Neuronal Circuit Development

1. Molecular mechanisms of visual cortical plasticity
2. Thalamocortical interactions in visual cortical development
3. Visual cortical plasticity and developing sleep states

Laboratory Head

Dr. Takao K. HENSCH

Research Specialists

Dr. Nobuko MATAGA

Staff Scientists

Dr. Michela FAGIOLINI

Dr. Hiroyuki MIYAMOTO

Research Scientists

Dr. Hiroyuki KATAGIRI

Dr. Youichi IWAI

Dr. Nafiseh ATAPOUR

Dr. Masaaki HAZAMA

Dr. Yoko YAZAKI-SUGIYAMA

Technical Staff I

Ms. Yoshiko TSUCHIMOTO

Ms. Atsuko ASAKA-OBA

Technical Staff II

Ms. Yoko MIZUGUCHI

Assistants

Ms. Kazuko KANEUCHI

Ms. Naoko ITAGAKI

Special Postdoctoral Researchers

Dr. Sayaka SUGIYAMA

Dr. Yoshi-Taka MATSUDA

RIKEN/BSI Collaborators

Dr. Piero CARNINCI (Genome Science Lab.)

Dr. Kunihiko OBATA (Senior Scientist, BSI)

Outside Collaborators

Dr. Hanns MÖHLER (Univ. Zurich, Switzerland)

Dr. Michael STRYKER (Univ. California, San Francisco, USA)

Trainees

Ms. Miwa TEI (Toho Univ.)

Mr. Toshiyuki ISHII (Toho Univ.)

Dr. Anita SCHEUBER (INSERM, France)

Ms. Yoshimi CHO (Kyoto Univ.)

誌上発表 Publications

[雑誌]

(原著論文) *印は査読制度がある論文

Hirozane-Kishikawa T., Shiraki T., Waki K., Nakamura M., Arakawa T., Kawai J., Fagiolini M., Hensch T. K., Hayashizaki Y., and Carninci P.: "Subtraction of captured full length cDNA libraries to select rare transcripts", *BioTechniques* **35**, 510–518 (2003). *

Carninci P., Waki K., Shiraki T., Konno H., Shibata K., Ito M., Aizawa K., Arakawa T., Ishii Y., Sasaki D., Bono H., Kondo S., Sugahara Y., Saito R., Osato N., Fukuda S., Sato K., Watahiki A., Kishikawa T., Nakamura M., Shibata Y., Yasunishi A., Kikuchi N., Yoshiki A., Kusakabe M., Gustincich S., Beisel K., Pavan W., Aidinis V., Nakagawa A., Held W. A., Iwata H., Kono T., Nakauchi H., Lyons P., Wells C., Hume D. A., Fagiolini M., Hensch T. K., Brinkmeier M., Camper S., Hirota J., Mombaerts P., Muramatsu M., Okazaki Y., Kawai J., and Hayashizaki Y.: "Targeting a complex transcriptome: The construction of the mouse full-length cDNA encyclopedia", *Genome Res.* **13**, 1273–1289 (2003). *

Iwai Y., Fagiolini M., Obata K., and Hensch T. K.: "Rapid critical period induction by tonic inhibition in visual cortex", *J. Neurosci.* **23**, 6695–6702 (2003). *

Miyamoto H. and Hensch T. K.: "Reciprocal interaction of sleep and synaptic plasticity", *Mol. Interv.* **3**, 404–417 (2003). *

Miyamoto H., Katagiri H., and Hensch T. K.: "Experience-dependent slow-wave sleep development", *Nat. Neurosci.* **6**, 555–556 (2003). *

槌本佳子: "大脳皮質視覚野における抑制性ニューロンの発達とシナプス可塑性への働き", *お茶の水医学雑誌* **52**, 83–100 (2004). *

(総説)

Hensch T. K.: "Controlling the critical period", *Neurosci. Res.* **47**, 17–22 (2003).

Hensch T. K.: "視覚系の発達と臨界期", *実験医学* **21**, 2405–2412 (2003).

[単行本・Proc.]

(その他)

Fagiolini M. and Hensch T. K.: "Excitatory-inhibitory balance controls critical period plasticity", *Excitatory-Inhibitory Balance Synapses, Circuits, Systems*, edited by Hensch T. K. and Fagiolini M., Kluwer Academic/Plenum, New York, pp. 269–281 (2004).

Hensch T. K. and Fagiolini M. (eds.): *Excitatory-Inhibitory Balance Synapses, Circuits, Systems* (Print All), Kluwer Academic/Plenum, New York, (2004).

Hensch T. K.: *頭のいい子ってなぜなの (全一冊)*, 海竜社, 東京, (2003).

口頭発表 Oral Presentations

(国際会議等)

Hensch T. K.: "Critical period and variability in the visual cortex", *Colloq. on Brain Variability: from Adaptation to Evolution*, (Pasteur Institute), Paris, France, Apr. (2003).

Hensch T. K.: "Inhibitory circuit control of critical period plasticity", *Symp. on GABA_A Receptors: from Structure to Behavioural Effects*, (University of Oxford), Oxford, UK, Apr. (2003).

Hensch T. K.: "GABA circuit control of critical period plasticity in visual cortex", *2003 Gordon Research Conf. on Neural Plasticity*, Newport, USA, June (2003).

Hensch T. K.: "Activity-dependent plasticity in the visual cortex", *6th IBRO World Congr. of Neuroscience*, Prague, Czech, July (2003).

Matsuda Y., Miyamoto H., Joho R. H., and Hensch T. K.: "Cell-specific potassium channels modulate plasticity in mouse visual cortex", *6th IBRO World Congr. of Neuroscience*, Prague, Czech, July (2003).

Atapour N., Condie B. G., Mishina M., and Hensch T. K.: "Protein synthesis-dependent homosynaptic long-term depression in visual cortex", *6th IBRO World Congr. of Neuroscience*, Prague, Czech, July (2003).

Mataga N., Tsuchimoto Y., and Hensch T. K.: "The molecular substrate of tissue-type plasminogen activator in mouse visual cortical plasticity", *6th IBRO World Congr. of Neuroscience*, Prague, Czech, July (2003).

Hensch T. K.: "Critical period mechanisms for visual cortex plasticity", *Int. Scientific Conf. on Brain Plasticity and Learning Based Therapy*, (Fondazione per le Biotecnologie), Torino, Italy, July (2003).

Hensch T. K.: "Functional analysis of genetic manipulation of ocular dominance plasticity", *23rd Int. Summer School of Brain Research on Development, Dynamics and Pathology of Neuronal Networks from Molecules to Functional Circuits*, (Netherlands Institute for Brain Research), Amsterdam, The Netherlands, Aug. (2003).

Hensch T. K.: "The manipulation of the critical period in the developing visual cortex", *Cours du Developpement et Plasticite du Systeme Nerveux 2003*, (Institut Pasteur), Paris, France, Oct. (2003).

Hensch T. K.: "Sleep, visual cortical plasticity and the NMDA receptor", *Seminaire Neurosciences et Medecine*, (Institut Pasteur), Paris, France, Oct. (2003).

Hensch T. K.: "Critical period of plasticity in the developing visual system", *2003 Shanghai Symp. of Neuroscience at Institute of Neuroscience (ION)*, Shanghai,

- China, Nov. (2003).
- Mataga N., Mizuguchi Y., and Hensch T. K.: "Experience-dependent structural refinement of neuronal circuits by tPA in mouse visual cortex", 33rd Ann. Meet. of Soc. for Neuroscience (Neuroscience 2003), New Orleans, USA, Nov. (2003).
- Katagiri H. and Hensch T. K.: "Functional maturation of distinct inhibitory inputs at critical period onset in mouse visual cortex", 33rd Ann. Meet. of Soc. for Neuroscience (Neuroscience 2003), New Orleans, USA, Nov. (2003).
- Fagiolini M., Poyer J. C., Matsuno H., Mori K., Mishina M., Yoshihara Y., and Hensch T. K.: "Rapid functional development of visual cortex in mice lacking dendritic adhesion molecule telencephalin", 33rd Ann. Meet. of Soc. for Neuroscience (Neuroscience 2003), New Orleans, USA, Nov. (2003).
- Chung M., Miyamoto H., and Hensch T. K.: "Role of myelin and perineuronal nets in critical period closure", 33rd Ann. Meet. of Soc. for Neuroscience (Neuroscience 2003), New Orleans, USA, Nov. (2003).
- Hensch T. K.: "Visual experience, critical period plasticity, and sleep", 33rd Ann. Meet. of Soc. for Neuroscience (Neuroscience 2003), New Orleans, USA, Nov. (2003).
- Hensch T. K.: "Critical period plasticity and sleep: reciprocal interaction in the visual system", Lifelong Learning Network Meet., (OECD-CERI and RIKEN BSI), Tokyo, Jan. (2004).
- Cohen-Cory S., Hensch T. K., Poo M., Turrigiano G., and Constantine-Paton M.: "BDNF and GABA system involvement in neural circuit development", 16th Ann. Meet. of Winter Conf. on Neural Plasticity, Castries, Saint Lucia, Feb. (2004).
- (国内会議)
- Hensch T. K.: "Critical period plasticity in developing visual cortex", 第 1 回 CDB/BSI Joint Forum, 神戸, 5 月 (2003).
- 片桐大之, 槌本佳子, Hensch T. K.: "マウス眼優位可塑性誘導における興奮-抑制バランスの関与", 第 26 回日本神経科学大会, 名古屋, 7 月 (2003).
- Hensch T. K.: "Local GABA circuit regulation of developing columnar architecture in visual cortex", 第 26 回日本神経科学大会, 名古屋, 7 月 (2003).
- 俣賀宣子, Hensch T. K.: "マウス第一次視覚野における組織型プラスミノーゲンアクチベーターの情報伝達系に関する研究", 第 26 回日本神経科学大会, 名古屋, 7 月 (2003).
- Hensch T. K.: "臨界期の仕組み", 第 11 回脳の世紀シンポジウム, 東京, 9 月 (2003).
- Hensch T. K.: "最先端科学技術と人間生活とのかかわり: 脳を育む", 2003 ぐんま理科教育フォーラム, (群馬県教育委員会), 伊勢崎, 11 月 (2003).
- Hensch T. K.: "臨界期の仕組み", 公開シンポジウム「早期教育の光と影」, (日本赤ちゃん学会), 東京, 11 月 (2003).
- Hensch T. K., Atapour N., 俣賀宣子, Fagiolini M.: "Molecular mechanisms discriminate the maturation of visual cortical receptive field properties", 第 26 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2003).
- Hensch T. K.: "Critical period mechanisms in developing visual cortex", 京都大学特別セミナー「神経科学入門」, 京都, 3 月 (2004).