

## 活動依存的な神経ネットワーク形成の分子生物学的解析

富山医科薬科大学薬学部

衛生・生物化学講座 (分子神経生物学教室)

津田 正明

私達哺乳類の神経系は、胎児期までに厳密な遺伝的プログラムに基づいてほとんど出来上がってきますが、出生後にも重要な形成過程のあることが知られています。これは活動依存的な神経ネットワーク形成と一般的に呼ばれています。この形成過程で最もよく知られている例が、ネコの視覚神経系で明らかにされた眼優位性コラムの形成です。哺乳動物の視覚神経系では、網膜神経細胞の軸索線維は外側漆状体を経由して大脳皮質の視覚領野に投射します。出生前までにこのネットワークはほとんど出来上がっていますが、この時点では右眼と左眼からの神経線維が互いにオーバーラップして投射しています。しかし、生後、網膜が光を受けて神経細胞が電気的活動を起こすと、両眼からの線維は盛んに突起を伸ばしながら交互に分離して投射するようになります。これを眼優位性コラムと呼びます。ところが、生後2ヶ月間、仔猫の片眼を遮蔽して光が入ってこないようにすると、遮蔽した眼からの神経線維の投射が不十分になって、眼優位性コラム形成が未発達になってしまいます。このコラム形成は、網膜にテトロドトキシンを加えて網膜神経細胞のNa<sup>+</sup>チャネルをブロックすると起こらなくなることから、網膜神経細胞が光を受けて活動することが視覚神経系の発達に重要な役割を果たしていることが推察されるわけです。

私達は、この活動依存的な神経ネットワーク形成の分子メカニズムに興味を持っています。それは、ここで使われているメカニズムの少なくとも一部が記憶・学習の際にも使われていると考えられるからです。そこで、この分子メカニズムを知る目的で、私達は齧歯類の生後の小脳発達過程に注目して解析を進めています。それを進める上で、特にニューロトロフィンとして知られる、脳由来神経栄養因子(BDNF)とニューロトロフィン-3(NT-3)の遺伝子発現を指標にしています。ニューロトロフィンは、神経細胞の生存や分化、さらには神経可塑性とも関わっている分泌性ポリペプチドです。小脳顆粒細胞ニューロンは、生後、外顆粒

層で分裂・増殖を繰り返し、その後、内顆粒層へ下降しそこで苔状線維のグルタミン酸入力を受けるようになります。それが、生後2~3週目頃から起こります。顆粒細胞では生後まずNT-3遺伝子の発現が活性化され、2~3週目になると不活性化され代わってBDNF遺伝子の発現が活性化されてきます(図)。このNT-3からBDNF遺伝子発現のスイッチングは、おそらく苔状線維からのグルタミン酸入力によるものと考えられました。そこで、私達はマウス小脳顆粒細胞の初代培養系を用いて、その点について検討を行ってきました。その結果、顆粒細胞ではグルタミン酸入力で引き起こされる、電位依存性カルシウムチャネル(VDCC)を介したCa<sup>2+</sup>流入で、BDNF遺伝子の活性化が、そして、NT-3遺伝子の不活性化の起こることが明らかとなりました。また、他にも、同じCa<sup>2+</sup>流入で発現が活性化される複数の遺伝子が明らかとなっています。それには、セクレトグラニン-II(Sg-II)やPACAP(Pituitary adenylate cyclase stimulating polypeptide)などの分泌性ポリペプチドをコードする遺伝子が含まれています。一連の結果から、小脳顆粒細胞は苔状線維からのグルタミン酸入力を受け、新たな分化を進行させて活動依存的なネットワーク形成を押し進めていることが予想されました。現在、このような観点から、マウス小脳発達過程を解析中です。また、BDNF、NT-3遺伝子のカルシウムシグナル依存的な転写制御機構を解析しています。この解析で得られる分子は、小脳の活動依存的なネットワーク形成ばかりでなく、記憶・学習の分子メカニズムを探る上でも有効な分子プローブを提供するものと期待されます。

また、齧歯類の小脳発達には、環境化学物質の脳・神経系発達に与える影響を検討する上でも格好な解析系を提供するものと考えられます(図)。小脳におけるNT-3遺伝子の発現は、甲状腺ホルモンによって活性化されることがすでに知られています。従って、NT-3遺伝子の発現を指標に、環境化学物質の内分秘攪乱作用の有無、及びその影響を調べることが可能

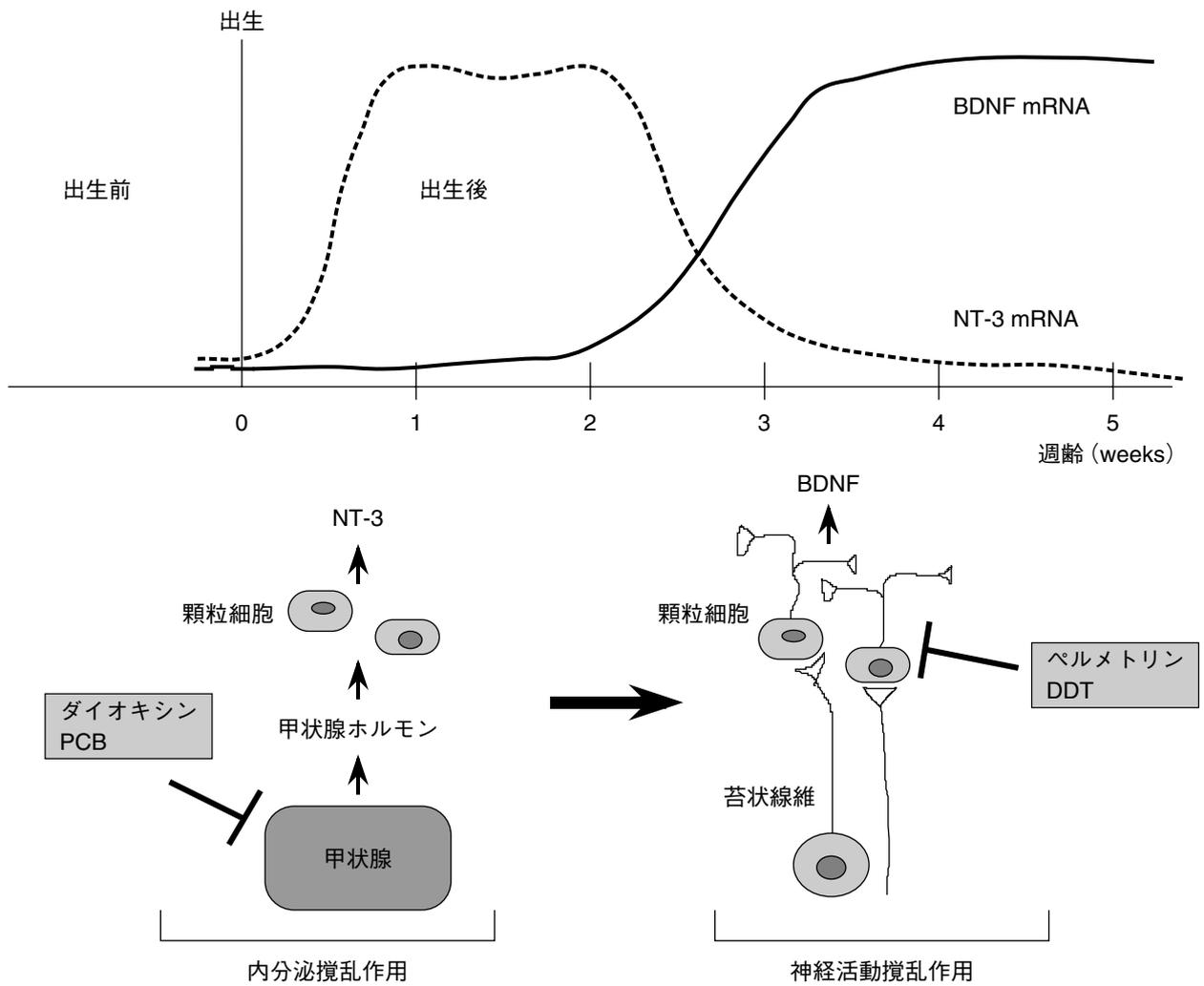


図 出生後の小脳発達とBDNF、NT-3遺伝子発現及び環境化学物質による予想される攪乱作用

です。さらに私達は、DDTなどの有機塩素系殺虫剤が神経活動を攪乱することによって、BDNF遺伝子の発現を抑制してしまうことを見出しました。また、ミトコンドリア活性にも影響を及ぼすことを認めています。このように、これら殺虫剤は小脳の活動依存的なネットワーク形成に悪影響を及ぼす可能性が

あります。これは、環境化学物質の神経活動攪乱作用とでも言ってよい作用です。私達は、小脳発達の活動依存的な分子メカニズムを探りながら記憶・学習のメカニズムに迫りつつ、この過程に環境化学物質がどのように関わり得るのかを明らかにしようとしています。