

「脳の柔軟性」を生む分子メカニズム — Otx2 ホメオ蛋白質の新しい役割 —

杉 山 清 佳

新潟大学大学院医歯学総合研究科
神経発達研究室

New Insights for Otx2 Homeoprotein in Cerebral Plasticity

Sayaka SUGIYAMA

Lab of Neuronal Development

Graduate School of Medical and Dental Sciences Niigata University

要 旨

脳の神経回路は、生後の体験・経験により成長することが知られている。視覚や聴覚といった五感の機能や、母国語の習得に関わる神経回路は、幼年期に限られた時間「臨界期」の経験によって形成される。マウスを生後から暗所で飼育して視覚経験を遮断すると、機能的な神経回路の形成を担う「臨界期」が遅れ、視力が未発達になってしまう。つまり、個々の経験が視覚能力を発達させると考えられ、そのために個々の経験の積み重ね具合をはかる「秤」が、脳内に存在すると推測される。近年、胎生期に脳を作る遺伝子が、幼年期にも経験量をはかる「秤」として働くことが発見された。この遺伝子によって作られる Otx2 ホメオ蛋白質は、視覚経験によって大脳の視覚野へと運ばれ、視覚野の介在細胞の中に蓄積される。Otx2 ホメオ蛋白質は介在細胞の機能を成熟させる役割を持ち、視覚野の臨界期を促す。すなわち、経験を積み Otx2 ホメオ蛋白質が大脳に移動して初めて、大脳は正常に臨界期を迎え発達すると言える。さらに、Otx2 ホメオ蛋白質を外部から操作することにより、臨界期を人為的に制御することに成功した。Otx2 ホメオ蛋白質の新しい作用機構の発見は、神経疾患（弱視等）の症状を軽くするための新治療法の開発に貢献することと期待される。

キーワード： visual cortex, critical period, GABA, parvalbumin, Otx2 homeoprotein

Reprint requests to: Sayaka SUGIYAMA
Lab of Neuronal Development
Graduate School of Medical and Dental Sciences
Niigata University
1-757 Asahimachi - dori Chuo - ku,
Niigata 951 - 8510 Japan

別刷請求先：〒951-8510 新潟市中央区旭町通1-757
新潟大学大学院医歯学総合研究科神経発達研究室
杉山清佳

はじめに

人々の経験則として古くから伝えられる「3つ子の魂100まで」のことわざは、脳の成長では現実の現象として注目されている。脳は、幼年期に周りの環境から得た体験や経験に適応しながら、神経回路を機能的に作り変えながら発達する。スポーツや音楽、外国語といった習い事は、大人よりも子どものほうが上達や習得が早いことを実感した方も多はず。このように、脳が活発に神経回路を作り変える時期を「臨界期」と呼び、脳の研究はもちろん、幼年期の教育の対象ともなっている。

視力が発達する過程においても、臨界期は重要な役割を果たす。両目で見た情報は大脳皮質の視覚野で最初に受け取られ、物の立体的特徴は視覚野で正確に捉えられる(図1A左)。臨界期に片目を塞いで視覚経験を遮断すると、閉じられた目からの情報よりも開いた目からの情報を多く受け取るように、視覚野の神経回路が作り変えられる¹⁾。その結果、閉じられた目の視力は著しく弱くなり(弱視)、大人になってから治療しても回復しないことが知られている。逆に閉じられた目の視力を回復するためには、神経回路が作り変えられる臨界期のうちに、治療を施す必要がある²⁾³⁾。臨界期の成長は、子どもの吸収した刺激をもとに、必要な回路と不必要な回路を仕分けする作業をとまう。必要な回路はより発達し、不必要な回路は失われる。先天性神経疾患(自閉症など)の子どもでは、臨界期が正常に起こらないことが示唆されている。様々な神経疾患は、回路の仕分け作業が上手くいかず、成長の途中で回路が誤配線されたことによると推測されている。

これまでに臨界期には、視覚野に存在する抑制性介在ニューロンの成熟が重要であることが明らかになっている。介在ニューロンは視覚野の神経細胞の内20%を占め、神経伝達物質GABAを放出することにより、残りの80%を占める興奮性ニューロン(錐体細胞)の働きを抑制する機能を持っている(図1A右)。車がブレーキとアクセルの適切な組み合わせで事故なく運転されるのと

同じく、介在ニューロン(ブレーキ)が的確に興奮性ニューロン(アクセル)を制御してこそ視覚野が上手く機能すると言える。GABAを合成する酵素の1つGAD65を欠損するマウス(GAD65 KO)の解析から、未熟な介在ニューロンが幼年期に発達し、ブレーキとしての機能を成熟させることが、脳の神経回路を機能的に作り変える「臨界期」のために必要であることが分かった⁴⁾。これまでに、介在ニューロンの中でもParvalbumin蛋白質(PV)を持つ特定の介在ニューロン(PV陽性細胞)が、臨界期とともに成熟することが示唆されている(図1A右)。それでは、PV陽性細胞を成熟させる仕組みとはどのようなものであろうか。そして個々の体験・経験の積み重ねを計り、臨界期を導くために、どのような仕掛けが脳に組み込まれているのであろうか。近年、胎生期に脳を作るOtx2遺伝子が、幼年期にも経験の積み重ねをはかる「秤」として働き、臨界期を制御することが分かってきた⁵⁾。

経験依存のOtx2ホメオ蛋白質

Otx2ホメオ蛋白質は、胎児期に脳を作る遺伝子の1つとして良く研究されており、この遺伝子を欠いた変異マウスでは、脳が全く無くなってしまふことが知られている⁶⁾。しかし、これほど脳に重要な遺伝子であるにも関わらず、生後脳におけるOtx2ホメオ蛋白質の作用は全く不明であった。

まずOtx2ホメオ蛋白質を認識する抗体を用いて、生後脳におけるOtx2ホメオ蛋白質の存在を観察した。Otx2ホメオ蛋白質は、臨界期前(生後3週齢)の大脳の視覚野には検出されず、臨界期(生後4週齢頃)になると観察された。Otx2ホメオ蛋白質とParvalbumin蛋白質を同時に検出すると、Otx2ホメオ蛋白質は介在ニューロンの中でも特にPV陽性細胞に局在することが分かった(図1B)。面白いことに、暗所飼育(dark-rearing)されたマウスの視覚野においてOtx2ホメオ蛋白質は著しく減少することから、この蛋白質が視覚経験に応じて視覚野に現れることが示唆された。さらに、暗所飼育マウスの視覚野において、PV陽

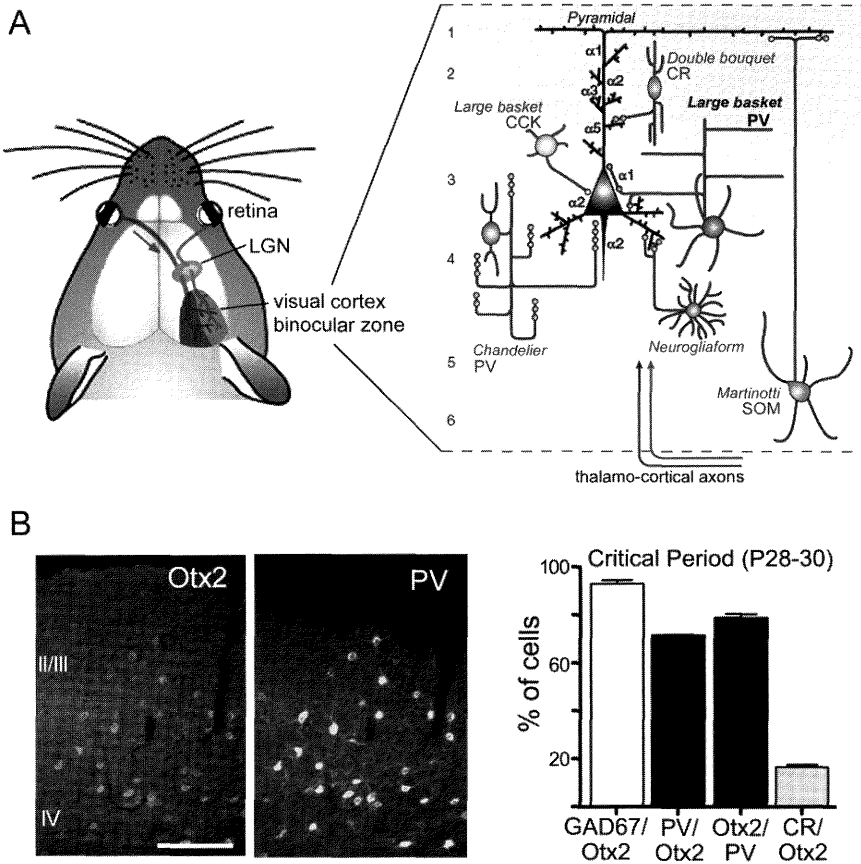


図1 臨界期の抑制性介在ニューロン (PV 陽性細胞) と Otx2 ホメオ蛋白質

性細胞の発達は遅れることが知られている。Otx2 ホメオ蛋白質を暗所飼育マウスの視覚野に注入することにより、PV 陽性細胞の成熟を回復させることに成功した。すなわち、Otx2 は PV 陽性細胞の発達に寄与すると考えられる。

Otx2 ホメオ蛋白質による臨界期制御

これまでに、臨界期には介在ニューロンの成熟が必要であることが分かっている。それでは、Otx2 ホメオ蛋白質は PV 陽性細胞を成熟させ、臨界期を導くのであろうか。臨界期に片目を閉じて視覚経験を遮断すると、閉じられた目の視力は著しく弱まり (弱視)、開いた目からの情報を多く

受け取るよう視覚野の神経回路が作り変えられる。そこで、片目を遮蔽した後に、視覚野の細胞がどちらの目からの情報をより多く受けているか (眼優位性) を調べることににより、臨界期の有無を解析した (図 2A)。光刺激を片目ずつ与え、視覚野の細胞が発する電気信号を記録し、細胞が対側の目への光刺激にのみ反応した場合にはグループ 1 に、同側の目への刺激にのみ反応した場合にはグループ 7 に選別する。両目に均等に反応した場合にはグループ 4 に選別し、グループ 2 と 3、グループ 6 と 7 にはその中間値の反応を示した細胞を振り分ける。通常、マウスの視覚野の細胞は対側の目 (右脳に対して左目) からの情報を多く受け取り、細胞は主にグラフの左側 (グループ 1

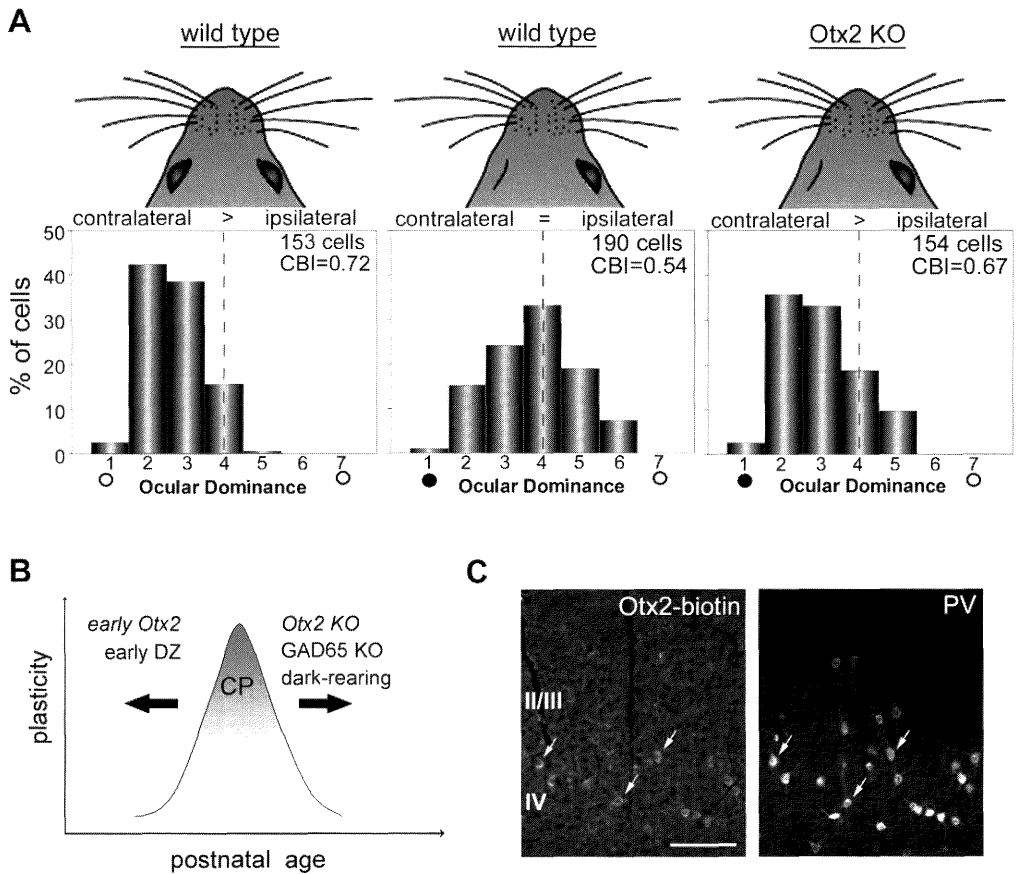


図2 Otx2 ホメオ蛋白質による臨界期の制御

から3)に選別される(図2A左). 臨界期中に片目を遮蔽すると, 閉じた左目からよりも開いた右目の情報を多く受けるように回路が作り変えられるため, 細胞はグラフの右側(グループ4から6)により選別されるようになる(図2A中).

Otx2 ホメオ蛋白質を生後に欠損する変異マウス(Otx2 KO)では, 片目を遮蔽しても細胞は閉じた左目からの情報を多く受けつづけ, 回路が作り変えられる臨界期は観察されなかった(図2A右). また, この変異マウスに介在ニューロンの機能を促進する薬剤(ジアゼパム, DZ)を注入すると, 臨界期は正常に観察された. つまり, Otx2 変異マウスの臨界期不全は, 介在ニューロン(PV陽性細胞)の機能が未成熟であることが原因と考

えられた. 実際に, このマウスのPV陽性細胞を観察すると, 暗所飼育マウスと同様に, 発達が遅れていることが分かった.

一方で, 臨界期前の視覚野にOtx2蛋白質を注入すると, PV陽性細胞が早期に発達し(PV, Kv3.1, GABAAR α 1, GAD65の発現促進), 臨界期も早期に観察された. Otx2 ホメオ蛋白質を外部から操作した一連の実験から, Otx2はPV陽性細胞を成熟させ, 臨界期を活性化する役割を持つと考えられた(図2B).

Otx2 ホメオ蛋白質の移動

興味深いことに, Otx2 ホメオ蛋白質は視覚野

で産生されず、目の網膜において主に作られることが分かった。ホメオ蛋白質ファミリーの DNA 結合部位（ホメオドメイン）には、細胞間を移動するためのアミノ酸配列が存在することが示唆されている⁷⁾。実際に、標識した Otx2 ホメオ蛋白質（Otx2-biotin）を網膜に注入すると、標識蛋白質が視覚野の PV 陽性細胞へと移動するのが認められた（図 2C）。前述のように、暗所飼育されたマウスの視覚野において、Otx2 ホメオ蛋白質は著しく減少する。すなわち Otx2 ホメオ蛋白質は、視覚経験の積み重ねにより目の網膜から大脳の視覚野へと運ばれることが示唆された。

それでは Otx2 の移動は、臨界期の出現に影響を与えるのであろうか。Otx2 ホメオ蛋白質の移動を阻害する抗体 (α -Otx2) を目の網膜や視覚野に注入すると、変異マウスと同様に臨界期が阻害された。一方で、Otx2 ホメオ蛋白質の産生を阻害するリボ核酸 (siRNA) を目の網膜に注入すると、臨界期は阻害されるが、視覚野に注入すると臨界期は正常に認められた。これらの結果から、目などで産生された Otx2 ホメオ蛋白質が、視覚経験により視覚野の PV 陽性細胞へと運ばれ、臨界期を誘導することが明らかとなった。

ま と め

一連の研究結果から、Otx2 ホメオ蛋白質が、「見る」経験とともに大脳の視覚野へと運ばれ PV 陽性細胞を成熟させ、臨界期を導くことが新たに発見された。生後、脳は一定の経験を経てはじめて、脳の神経回路を活発に作り変える生涯唯一の時期「臨界期」を迎えると考えられる。胎生期に脳を形作る Otx2 ホメオ蛋白質は、生後脳においても経験量を計る無類の「秤」として働き、脳を機能的に作り変える「臨界期」を司ると言える。

今後の展望

生後脳における Otx2 ホメオ蛋白質の役割は、今回初めて明らかにされた。特に、Otx2 ホメオ蛋白質が視覚野の外（特に網膜）で作られ、経験と

ともに視覚野の介在ニューロンへと運ばれるという仕組みの発見は、全く新しい考え方を世界に提供することとなった。今後、生後脳における Otx2 ホメオ蛋白質のより詳しい作用機構を明らかにすることが、脳の発達を紐解くために必須と考えられる。なぜ大人に臨界期がないのか解明されれば、弱視等の神経疾患を治療する新たな方法を模索するために、良い足掛かりになることと期待される⁸⁾。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導を賜りました Hensch Takao 教授（ハーバード大学、独立行政法人理化学研究所）、Prochiantz Alain 教授（Collège de France）、また御協力を賜りました両研究室の方々に深謝致します。

文 献

- 1) Wiesel TN and Hubel DH: Single - cell responses in striate cortex of kittens deprived of vision in one eye. *J Neurophysiol* 26: 1003 - 1017, 1963.
- 2) Daw N: *Visual Development*. Plenum, New York, 1995.
- 3) Prusky GT and Douglas RM: Developmental plasticity of mouse visual acuity. *Eur J Neurosci* 17: 167 - 173, 2003.
- 4) Hensch TK: Critical period plasticity in local cortical circuits. *Nat Rev Neurosci* 6: 877 - 888, 2005.
- 5) Sugiyama S, Di Nardo AA, Aizawa S, Matsuo I, Volovitch M, Prochiantz A and Hensch TK: Experience - dependent transfer of Otx2 homeo - protein into the visual cortex activates postnatal plasticity. *Cell* 134: 508 - 520, 2008.
- 6) Acampora D, Gulisano M, Broccoli V and Simeone A: Otx genes in brain morphogenesis. *Prog Neurobiol* 64: 69 - 95, 2001.
- 7) Joliot A and Prochiantz A: Transduction peptides: from technology to physiology. *Nat Cell Biol* 6: 189 - 196, 2004.
- 8) Sugiyama S, Prochiantz A and Hensch TK: From brain formation to plasticity: insights on Otx2 homeoprotein. *Dev Growth Differ* 51: 369 - 377, 2009.