

交代視によるマウス視覚野眼優位性可塑性

吉 武 講 平

新潟大学大学院医歯学総合研究科

生体機能調節医学専攻脳研究所システム脳生理学分野

(主任：澁木克栄教授)

Ocular Dominance Plasticity Induced by Alternate Monocular Deprivation in the Primary Visual Cortex of Mice

Kohei YOSHITAKE

Department of Neurophysiology

Brain Research Institute, Niigata University

(Director: Prof. Katsuei SHIBUKI)

要 旨

脳の神経回路は遺伝子情報に基づいて形成され、さらに若年期の経験によって柔軟にその構造や機能が変化し、より情報処理に適したものへと変化する。この経験依存的可塑性は若い個体の特定の時期（臨界期）に最も顕著に誘発され、臨界期を過ぎると生じにくくなる。大脳皮質視覚野は視覚刺激の制御が容易なことから盛んに研究されてきたが、代表的な可塑性に眼優位可塑性がある。これは左右の眼からの視覚入力にアンバランスが生じたとき、劣位眼からの入力が低下する現象である。眼優位可塑性は、従来ネコやサルで精力的に研究されてきたが、現在は遺伝子改変マウスなどを用い、分子細胞メカニズムを解明しようとする研究が数多く行なわれている。本研究は生後 26-28 日目のマウスの左眼と右眼を 4 時間毎に交互に遮蔽することで視覚入力を常に片目で行なわせ、左右の視覚入力に不一致を生じさせる交代視実験を一週間に渡り行った。また交代視の後にどのような可塑的变化が見られるのかを経頭蓋フラビン蛋白蛍光イメージングを用いて解析した。その結果、最初の 4 時間に遮蔽していた眼と同側の視覚野両眼視領域において左眼からの入力と右眼からの入力に対して異なった領域が活性化され、最も強く反応が現れる皮質部位が左右の眼で異なるというずれが認められた。一方遮蔽していた眼の対側の視覚野では、通常は無処置マウスと同じく、このような反応領域のずれは認められなかった。これらの結果により、交代視実験は、4 週齢前後の臨界期マウスの両眼視領域において、左右の眼によって活性化される活動領域が異なるという眼優位可塑性を引き起こし、しかもその結果は最初の 4 時間にどちらの眼から視覚入力に来るかによって大きく影響を受けることが判った。

キーワード：大脳皮質視覚野、フラビン蛋白蛍光イメージング、眼優位性可塑性

Reprint requests to: Kohei YOSHITAKE
Department of Neurophysiology
Brain Research Institute Niigata University
1-757 Asahimachi - dori Chuo - ku,
Niigata 951-8585 Japan

別刷請求先：〒951-8585 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
生体機能調節医学専攻脳研究所システム脳生理学分野
吉 武 講 平

緒 言

脳の神経回路は遺伝情報によってのみ決定されるものではなく、その後の経験によって柔軟にその機能や形態を変化させる。視覚機能の中核である視覚野も例外ではない。視覚系が正常に発達するためには、幼若期に両眼から正しく視覚刺激を受ける必要がある。この時期（臨界期）の大脳皮質視覚野は細胞特性や局所神経回路を柔軟に変化させる性質（可塑性）を備える。さらに、幼若期に刷り込まれた神経回路の変化は固定化され、成体となってからは修正されることなく保持される（Hensch, 2004）。

視覚野の神経細胞は視覚刺激の性質によって応答性が異なり、どちらの眼からの刺激に応じやすいか（眼優位性）、どの向きの線分に応じやすいか（方位選択性）、視野のどこに提示された刺激に応じやすいか（受容野）など様々な特性を持つ。眼優位性が経験依存的に変化する現象はHubelとWieselによって発見・研究された（Wiesel and Hubel, 1965; Hubel and Wiesel, 1970; Hubel et al., 1977）。その結果によれば、幼若期の仔ネコの片眼を閉じて一時的に視覚入力を奪う（単眼遮蔽）と、大脳皮質一次視覚野の細胞は視覚を遮断されていた眼からの入力には反応せず、開いていた眼からの入力のみ反応するようになる。このような眼優位性可塑性の研究は、顔面前方の両眼を用いて両眼視を行うサルやネコを実験材料として多くの仕事がなされてきた（Hubel et al., 1977）。しかし、Strykerらはマウスの視覚野にも両眼から視覚入力を受ける両眼視領域が存在し、この両眼視領域で眼優位性可塑性が生ずることを示した（Gordon & Stryker, 1996; Antonini et al., 1999）。マウスは遺伝子改変動物の利用が可能であること、遺伝学、分子生物学、発生学の技術や知見が豊富であることなど多くのメリットがあるので、現在はマウスを用いた眼優位性可塑性の解析が精力的に進められている（Cang et al., 2005; Tagawa et al., 2005; Hofer et al., 2006）。

眼優位性可塑性を引き起こす操作には、前述の単眼遮蔽の他に斜視と交代視があげられる。斜視の研究も多くの眼優位性可塑性の研究と同様にサルやネコを対象とした研究が進められてきた。それらの研究によると、片方の眼を外科手術によっ

て斜視にすると左右両方の眼からの入力を受ける両眼性ニューロンの数が減少し、どちらか一方の眼からのみ視覚入力を受けるニューロンの数が増加することが分かっている（Maffei and Bisti, 1976; Zhang et al., 2005）。さらに左右の眼からの入力をアンバランスにさせる方法として、斜視の他に交代視が考えられる。即ちマウスに透明なプラスチック板からなる眼鏡を装着させ、それぞれの眼の視界を交代で遮ることにより視覚野ニューロンが両眼から同時に入力を受ける状況を実験的に無くしてしまう方法である。本研究では、幼若期のマウスにこの交代視を行ったとき、視覚野応答にどのような影響が現れるのかを解析した。

これまで大脳皮質可塑性の生理学的研究は主に電気生理学的手法やIntrinsic signal imagingなどの方法が多く用いられてきた。Unit recordingやField potential recordingといった電気生理学的手法は神経細胞の発火活動を直接測定できるため定量性には優れるが、応答がどのような広がりを持って皮質上に分布しているかという空間情報に乏しい。Intrinsic signal imagingは脳が活動したときの酸素消費量増大によって血中ヘモグロビンの酸素がとれ、ヘモグロビンの色調変化が生じることを利用した脳機能イメージング法である。この方法は反応領域の空間的分布を解析するためには強力な測定法であるが、定量性に乏しい（Zhan et al., 2005）。そこで本研究では幼若期のマウスに交代視を行ったとき、視覚野応答にどのような影響が現れるのかを、経頭蓋フラビン蛋白蛍光イメージングを用いて解析した。細胞のミトコンドリア電子伝達系に多く存在するフラビン蛋白は、青色励起光を照射すると酸化型のみが緑色自家蛍光を発するという特徴を持つ。神経細胞が活動すると、酸素代謝が活性化され、フラビン蛋白が還元型から酸化型に変化するので、緑色自家蛍光が強くなり、これを利用して脳機能イメージングが可能となる（Shibuki et al., 2003; Reinert et al., 2004）。さらにマウスの頭蓋骨は薄く透明であるため、経頭蓋的にフラビン蛋白に由来する緑色蛍光を観察し、脳機能イメージングを行うことができる（Oshima et al., 2010; Komagata et al., 2011）。経頭蓋フラビン蛋白蛍光イメージングは手術手技も容易で、マウスに対する侵襲も最低限に抑えられる。また、フラビン蛋白蛍光は退色に強く、仮に一旦退色し

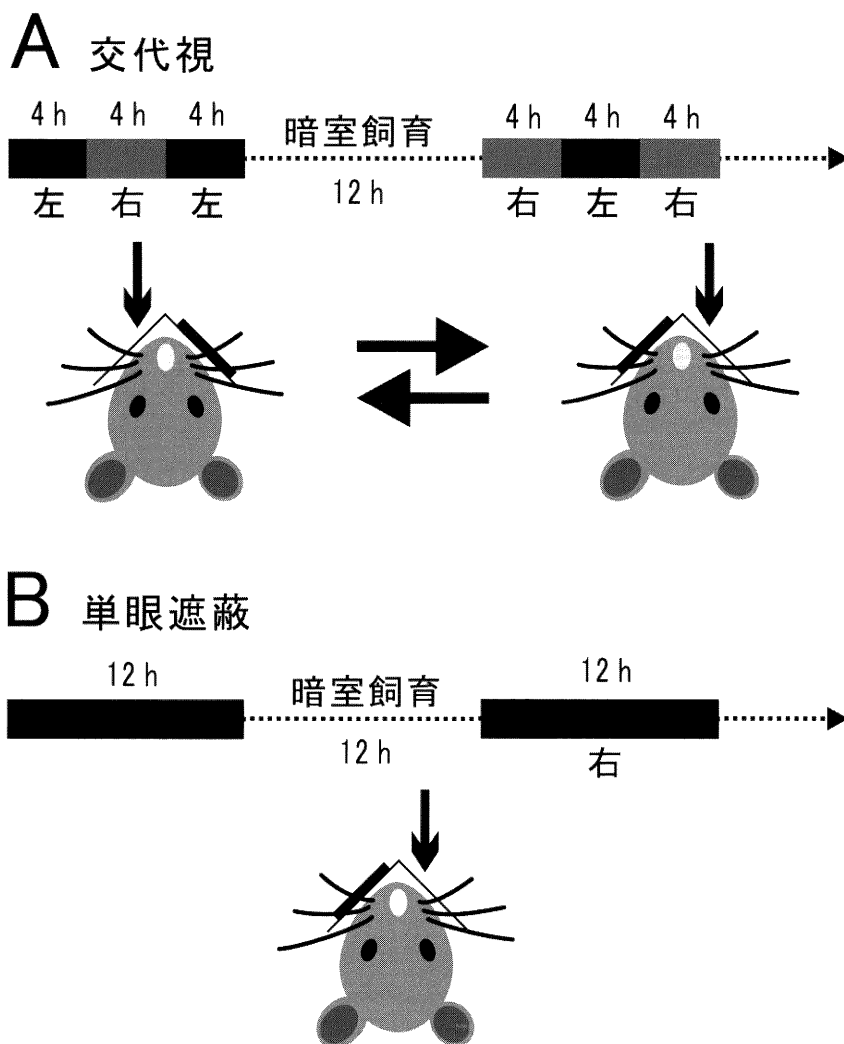


図1 実験スケジュール

A：交代視実験.

交代視実験のタイムスケジュール. 10：00 から交代視を開始し, 4時間おきに左右をスイッチする. 22：00 で一端終了し翌朝 10：00 まで暗室飼育し, 一切視覚入力を与えない. 翌日は左右を換えて交代視をスタートさせる. ここでは一週間のうち, 2日分のスケジュールを示す. 一週間通してみると, 左右いずれの眼も視覚経験の総時間は変わらない. どちらの眼から単眼遮蔽を始めたのかということのみ, 左右で異なる.

B：単眼遮蔽実験.

左目側を黒いテープで覆い視覚入力を遮断し続ける. 10：00～22：00 まで明環境下で飼育. 22：00～翌朝 10：00 までは暗環境下で飼育. 4日間続ける.

でも、光変性したフラビンが新規に合成されたフラビンに速やかに置換されるため (Kubota et al., 2008), 長時間安定して脳活動の測定を行うことが可能である。さらに Intrinsic signal imaging と比較して信号変化率が約 10 倍大きく、電気生理学的に測定した脳活動との相関も認められており (Takahashi et al., 2006; Tohmi et al., 2006), 定量性と空間分解能を兼ね備えた非常に強力なイメージング法である。この手法を用いて、環境音暴露に依存した聴覚野応答の周波数特異的増強 (Takahashi et al., 2006), 単眼遮蔽による視覚野の眼優位性可塑性 (Tohmi et al., 2006), マウスの尾切断による体性感覚野脳地図の可塑性 (Kitaura et al., 2010) などの大脳皮質感覚野の可塑性の研究がなされている。

本研究では、この経頭蓋フラビン蛋白蛍光法を用いて、幼若期に交代視を行ったマウスの視覚野応答にどのような影響が現れるのかを解析したので報告する。

材料及び方法

動物

本研究は新潟大学実験動物倫理委員会の承認を得て行われた。実験には雄の C57BL/6 マウス (日本クレア) を利用した。

交代視

過去の単眼遮蔽の研究から、マウス視覚野における経験依存的な眼優位性可塑性の臨界期は生後 19–21 日に始まり、生後 28 日でピークを迎えると考えられているので、生後 26–28 日のマウスを用いて交代視を開始した。交代視を実現するためにマウスの顔に形状に合わせて V 字に曲げた透明のアクリル板からなる眼鏡を眼前に装着した。眼鏡には金属製の柄を付け、柄の端を頭蓋骨に固定した。まず、マウスをペントバルビタールの腹腔内投与 (60mg/kg) で麻酔し、頭皮下に局所麻酔剤 (Mercain; Astra Zeneca) を注射し、交代視用の眼鏡を固定するのに必要な前頭部の頭皮を切除し、頭蓋骨を露出した。歯科用ボンド (Super Bond C & B; SUN MEDICAL) で頭蓋骨表面をコーティングし、歯科用レジン (ジーシーユニファスト II; ジーシー) で交代視用眼鏡を固定

した。傷口からの感染を予防するため抗生物質を投与した。交代視は 4 時間毎に行った (図 1A)。まず、10 : 00 から 14 : 00 まで眼鏡の左眼側を黒いビニールテープで覆い単眼遮蔽を行う。続く 14 : 00 から 18 : 00 は右眼側を遮蔽し、18 : 00 から 22 : 00 は左眼側を遮蔽した。22 : 00 から翌朝 10 : 00 までは暗室環境下において飼育した。翌 10 : 00 から交代視を再開するが、その際、両眼が均等に視覚刺激を受けるように右眼側の遮蔽から行う。この様な交代視を 1 週間に渡り経験させた。交代視終了時、左右それぞれの眼の視覚経験時間は同じになるよう調整した。交代視終了後、視覚野の応答を測定した。

単眼遮蔽

交代視用眼鏡を用いた視覚入力への遮蔽効果を確認するために、この眼鏡を用いて単眼遮蔽実験を行った。生後 26–28 日のマウスに交代視用眼鏡を装着し、4 日間左眼側のみを遮蔽した (図 1B)。その後、視覚野の応答を測定した。

手術

視覚野応答の計測はウレタン (1.5–1.7g/kg) を腹腔内に投与してマウスを全身麻酔し、交代視用眼鏡を取り除いた。シリコンラバーヒーターを使用して体温を 38 °C に維持した。局所麻酔剤 (Mercain; Astra Zeneca) を頭皮下に注射し、両側の視覚野を露出するよう頭皮を切除した。頭蓋骨表面は乾燥による不透明化を防ぐため、流動パラフィンとワセリンの混合物を塗布して透明度を保った。頭部固定装置 (SG-4N; NARISHIGE) で頭部を固定し、実体蛍光顕微鏡 (MZ 16F; Leica) 下に設置した。

フラビン蛋白蛍光イメージング

視覚野応答の計測は麻酔をかけてから 60 分以降に開始した。測定はキセノンランプ光源 (75W) よりフィルターを介して青色光 ($\lambda = 450\text{--}490\text{nm}$) を照射し、励起される緑色自家蛍光 ($\lambda = 500\text{--}550\text{nm}$) を実体蛍光顕微鏡に取り付けた冷却 CCD カメラシステム (ORCA-ER; 浜松ホトニクス) を用いて撮影した。蛍光イメージ (128 × 168 ピクセル) は毎秒 9 フレームの頻度で撮影した。8 トライアルを 1 セッションとして、

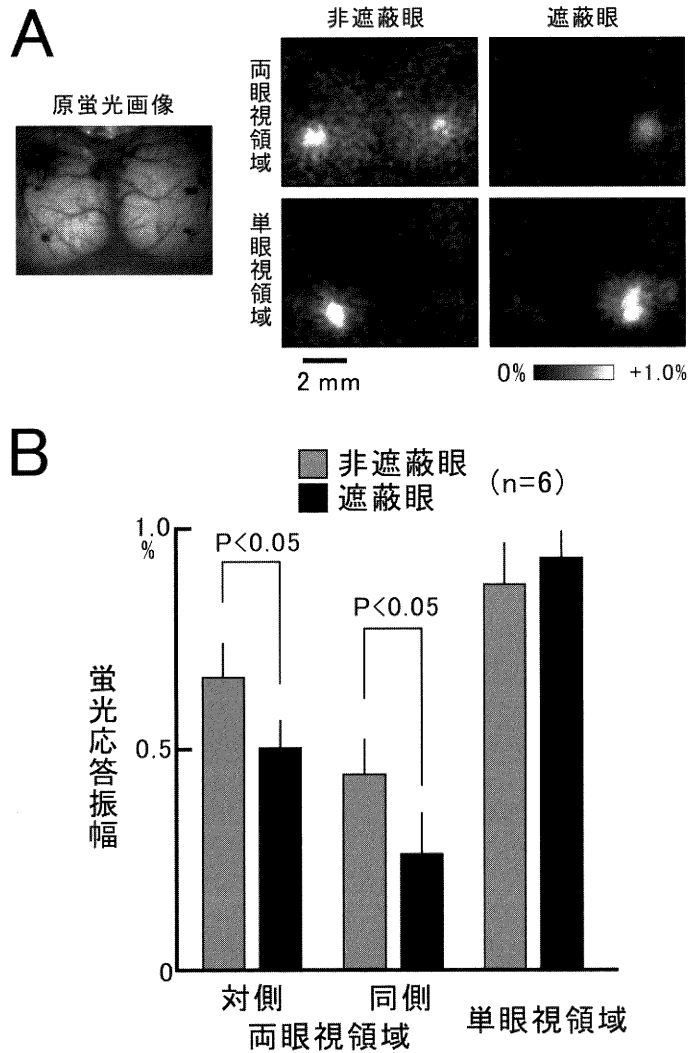


図2 単眼遮蔽実験の結果

A: 交代視用の眼鏡を用いた単眼遮蔽実験の典型例。

B: 単眼遮蔽実験のまとめ。

3-5セッション繰り返して得られた24-40トライアル分のデータを加算平均し、さらに、5×5ピクセルの空間加算平均によって画質をスムーズ化処理した。処理した画像は、刺激直前5フレームの画像の平均を100%とする相対的蛍光変化($\Delta F/F_0$)を算出し、擬似スケールで表示した。また応答振幅は10×10ピクセルの領域を応答が

最も強く表れている部分に設定し、その範囲での $\Delta F/F_0$ の平均値として数値化した。またこの時の10×10ピクセルの領域の中心点を最大振幅が記録されたピーク点とした。必要に応じてウレタン(0.2g/kg, s.c.)の追加麻酔を行った。また、眼球表面の乾燥を防ぐため生理食塩水を適宜、点眼した。測定終了後、マウスはペントバルビタール

の過剰投与により安楽死させた。

視覚刺激

視覚刺激として、フラビン蛋白蛍光の測定に影響しない、赤色 LED ($\lambda = 613\text{nm}$) を使用した。マウス視覚野は両眼視領域と単眼視領域とがあるが、本研究では両眼からの入力の手渉を解析するのが目的である。従って両眼視領域の活動を観察するために LED はマウスの正面から 30cm 離れた位置に設置し、トライアル毎に 1 秒間点灯させた。測定は左眼を刺激したときの対側反応と同側反応、右眼を刺激したときの対側反応と同側反応、の 4 種類の応答を計測した。どちらか一方の眼を刺激するときには、刺激しない側の眼はカバーで覆った。

統計

実験データの統計的有意差の評価には StatView (SAS Institute, Cary, NC) を使用し、対応のあるデータ間は Wilcoxon signed rank test, 対応の無いデータ間は Mann - Whitney U test で評価した。

結 果

持続的単眼遮蔽マウスの視覚野応答

交代視用眼鏡による視覚入力の遮蔽が効果的であるならば、瞼を縫合する過去の単眼遮蔽実験と同様の結果が得られるはずである。マウスに交代視用眼鏡を装着した後、左眼側を覆い、視覚入力を 4 日間遮断した。その後、非遮蔽眼 (右眼) と遮蔽眼 (左眼) をそれぞれ LED によって刺激して視覚野応答を比較した (図 2A)。両眼視領域では遮蔽眼刺激による対側の蛍光応答 ($\Delta F/F_0 = 0.5 \pm 0.08\%$, mean \pm SEM, $n = 6$) が非遮蔽眼刺激による応答 ($0.66 \pm 0.07\%$) と比較して有意に小さくなった ($P < 0.05$)。また、遮蔽眼刺激による同側の蛍光応答 ($0.26 \pm 0.08\%$) も非遮蔽眼刺激による同側の蛍光応答 ($0.44 \pm 0.1\%$) と比較して有意に小さくなった ($P < 0.05$)。一方、単眼視領域では遮蔽眼と非遮蔽眼の蛍光応答に有意な差は無かった (図 2B)。この結果はこれまでの単眼遮蔽実験の結果と同様である (Tohmi et al., 2006)。よって、この交代視眼鏡を用いた視覚入力の遮蔽は有効であることが判明した。

無処置マウスの視覚野応答

コントロール実験として無処置マウスに、正面からそれぞれの眼に視覚刺激を入れると、刺激眼と対側の視覚野に強いフラビン蛋白蛍光応答を認めた (図 3A)。また、刺激眼と同側の視覚野に弱い応答を認めた。対側反応と同側反応の比較をするため、左視覚野で右眼を刺激した対側反応と、左眼を刺激した同側反応を比較した。同様に右視覚野で左眼を刺激した対側反応と右眼を刺激した同側反応を比較した。左右どちらの視覚野でも対側反応と同側反応はほぼ同じ領域が応答した。このことを定量的に解析するために、対側性応答、同側性応答のそれぞれに対し、最も反応振幅が大きいピーク点を同定し、ピーク間の距離を比較した。その結果、対側性応答と同側性応答のピーク位置はほぼ一致し、ピーク間距離は左視覚野で ($0.18 \pm 0.05\text{ mm}$, mean \pm SEM, $n = 8$)、右視覚野で ($0.14 \pm 0.04\text{ mm}$) であった。

交代視マウスの視覚野応答

左眼から遮蔽をスタートする 4 時間毎の交代視を 1 週間行った。これらのマウスでは左視覚野において、左眼刺激によって得られる同側反応と右眼刺激で得られる対側反応が異なる領域に見られた (図 3B)。この反応領域のズレは、大きなピーク間距離 ($0.36 \pm 0.09\text{ mm}$, $n = 12$) として顕著に現れた。右視覚野でも同様の解析を行ったが、ピーク間距離 ($0.18 \pm 0.02\text{ mm}$) は無処置群と同程度であった。

このように左右の視覚野での結果が非対称であった原因として考えられるのが、どちらの眼から遮蔽を始めたかが、このような結果に影響を与えていると考えた。もし、左右の視覚野での実験結果の差が、どちらの眼から遮蔽するかによって依存しているのであれば、右眼から遮蔽をスタートした場合には上記の左眼から遮蔽をスタートした実験とは異なる結果が得られるはずである、実際に右眼から遮蔽をスタートする交代視を行った (図 3C)。すると左眼から遮蔽した群とは対照的に、左視覚野ではピーク間距離 ($0.14 \pm 0.04\text{ mm}$, $n = 11$) は小さく、右視覚野においてピーク間距離 ($0.39 \pm 0.03\text{ mm}$) が大きくなった。

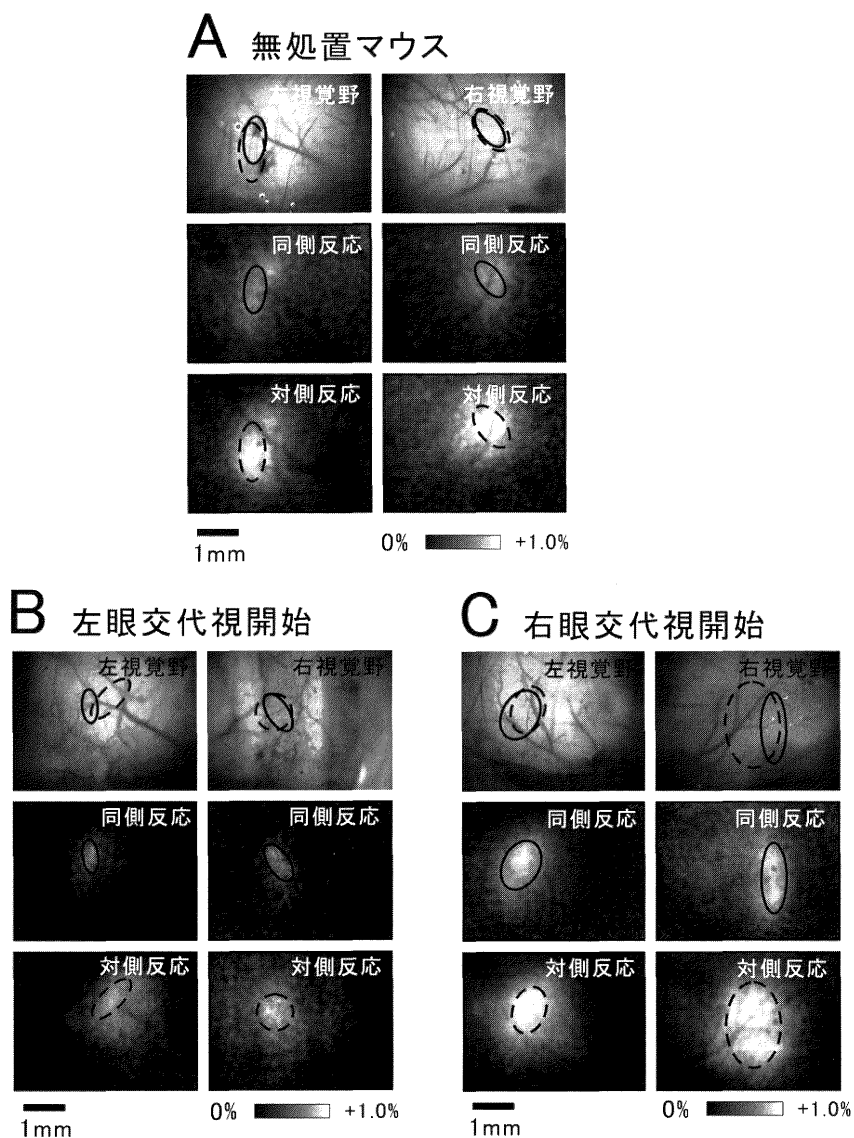


図3 交代視実験の結果

A：無処置マウスの視覚野応答。

左右の視覚野における同側反応と対側反応。蛍光画像には大まかな反応領域の外郭線を重ね合わせている。無処置マウスでは同側反応と対側反応は視覚野のほぼ同じ場所で観察される。

B：左眼から4時間遮蔽の交代視を始めたマウスの結果。

左視覚野の応答が通常は無処置マウスと比較して同側反応と対側反応の重なる領域が少なくなっていた。右視覚野の応答は無処置マウスと比較して目立った差異は無かった。右視覚野と左視覚野は同一のマウスからの記録。

C：右眼から4時間遮蔽の交代視を始めたマウスの結果。

右視覚野の応答が通常は無処置マウスと比較して同側反応と対側反応の重なる領域が少なくなっていた。左視覚野の応答は無処置マウスと比較して目立った差異は無かった。右視覚野と左視覚野は同一マウスからの記録。

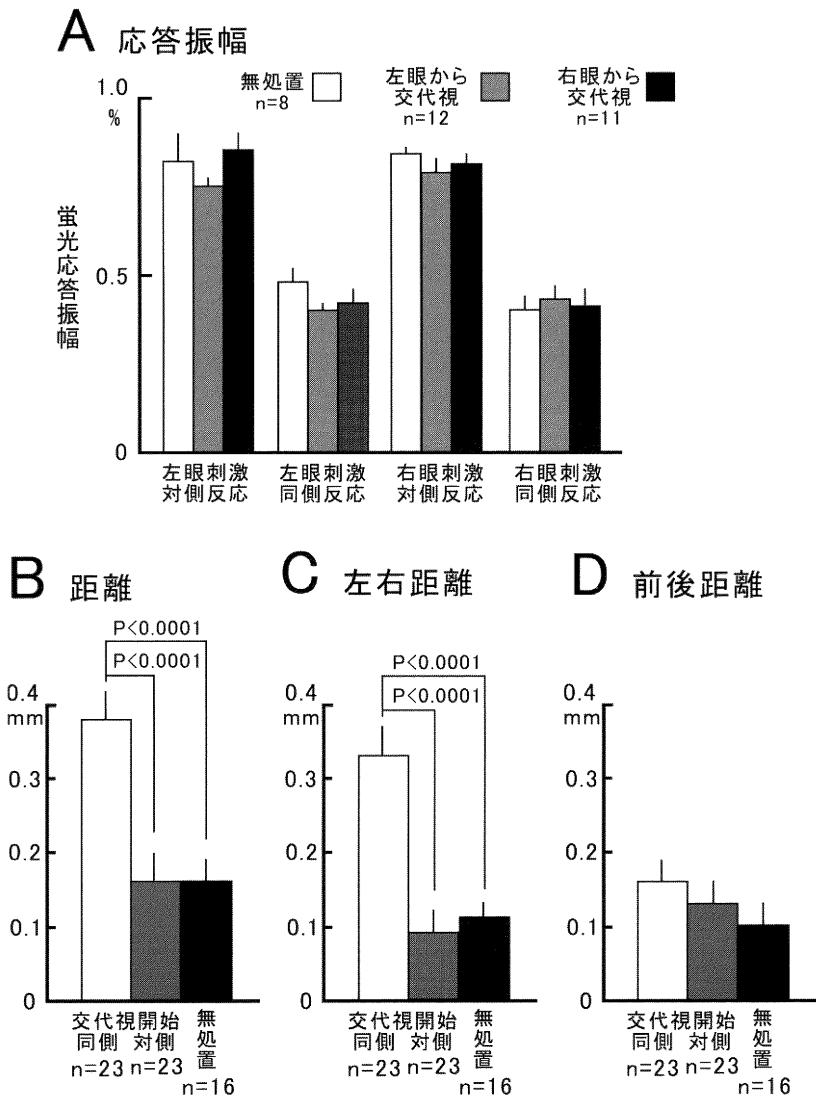


図4 交代視実験のまとめ

- A：各マウス群における実験条件ごとの応答振幅のまとめ。
 B：各マウスにおけるピーク間距離。
 C：各マウスにおけるピーク間距離の左右成分。
 D：各マウスにおけるピーク間距離の前後成分。

交代視実験のまとめ

無処置マウス8匹と交代視マウス23匹（左眼から開始：12匹，右眼から開始：11匹）の実験結果をまとめたのが，図4である．まず，各刺激

条件で計測した蛍光応答振幅については，マウス間で大きな差は認められなかった（図4A）．交代視をスタートした眼と同側の視覚野においては，最大振幅を記録したピーク間距離が対側の視覚野

もしくは無処置マウスの視覚野と比較して有意に大きくなった(対側との比較: $P < 0.0001$, 無処置マウスとの比較: $P < 0.0001$, 図4B)。ピーク間距離の左右成分と前後成分に分けて検討したところ, 左右成分の違いは全体距離の違いとほぼ同様の傾向を示したが(図4C), 前後成分の違いについては, 交代視によって有意な変化を受けなかった(図4D)。

考 察

交代視による眼優位性可塑性

過去に行われた単眼遮蔽での眼優位性可塑性の研究結果は, 単眼遮蔽を行うと遮蔽していた眼からの視覚入力を受ける視覚野の神経細胞数が減少し, 反応しなくなるか, 反応が減弱するという結果が得られている(Wiesel and Hubel, 1965; Hubel and Wiesel, 1970; Gordon and Stryker, 1996; Tohmi et al., 2006)。今回の交代視実験は, 過去の単眼遮蔽の研究と似ているが, 短期間で遮蔽眼を切り替えるという点が異なる。通常, 単眼遮蔽は瞼を縫合する手法を用いるので今回の交代視のような研究を行うには不向きである。本研究ではマウスに透明なアクリル板からなる眼鏡を装着する方法を採用し, この眼鏡に黒いテープで貼り付ける手法で短時間での交代視を実現した。この交代視用眼鏡眼鏡を用いて, 持続的な単眼遮蔽を4日間連続で行ったところ, 瞼を縫い合わせる単眼遮蔽実験(Tohmi et al., 2006)と同等の結果を得たため, 交代視用眼鏡眼鏡を用いる方法は, 眼優位性可塑性の解析に有効であると考えられる。予備実験で12時間ごとに交代視を行った場合, 特に目立つ所見が得られなかったため, 4時間という時間間隔を用いた。その結果, 最初に遮蔽を行った眼と同側の視覚野で反応領域のピークにズレが生じることが明らかになった。4時間という短時間での交代視の影響を解析した研究は過去にも存在せず, 本研究は過去にも報告されていない興味深い結果を得た。

視覚野のコラム構造

ヒトやサル, ネコなどの大脳皮質には反応特性の似た神経細胞が集まったコラム構造が存在する。このコラム構造については視覚野での研究が

盛んで, どちらの眼からより多くの入力を受けるのかという眼優位性コラムや, どの方向の刺激に応じやすいかという方向選択性コラムなどの存在が知られている。しかし, げっ歯類ではサルやネコにあるような視覚野のコラム構造は無いとされている(Antonini et al., 1999; Ohki et al., 2005)。本研究でも両眼視領域において左右の眼をそれぞれ独立に刺激して活動領域を比較したが, 無処置マウスにおいては活動領域が違うということはなかった(図3A)。しかし, 4時間の交代視を経験させたマウスでは, 左右の眼からの入力によって活動する視覚野の領域にズレが見られた(図3B, C)。このズレが眼優位性コラムと同等の構造を反映した結果であるかは判らないが, 左右それぞれの眼への入力によって駆動される領域が分離していることを考えると, 眼優位性コラムと類似したものかもしれない。

無処置マウスでは存在しないとされている, 眼優位性コラム様の構造が交代視によって造られるのだろうか。過去の斜視の研究から, 左右それぞれの眼からの入力の相関が高い時は, 両眼視領域の個々の神経細胞でそれぞれの眼からの入力が共存できるが, 斜視などでそれぞれの眼からの入力が異なる状況に陥った場合, 個々の神経細胞は左右いずれかの眼からの入力にのみ応答するようになる報告がある(Maffei and Bisti., 1976; Blakemore, 1976; Zhang et al., 2005)。本研究の交代視は左右の眼から入力が同時に入ることには無いので両眼入力の相関は負になっており, 斜視の実験と同様にニューロンが左右どちらか一方の眼からの入力によってのみ駆動されるようになり, 同じ反応特性を持つニューロンが集まり, 空間分布にも偏りができて, 結果として眼優位性コラム様の構造が形成されたのではないかと考えられる。

交代視の時間条件

本研究の特徴的な結果として, どちらの眼から遮蔽を始めるかによって左右の視覚野での反応領域にズレが生じたことである。つまり, 同側の眼から遮蔽を開始した場合は視覚野で反応領域にズレが生じるが, 対側の眼から遮蔽を開始した場合はズレが生じなかった。本研究では左右眼からの視覚入力に偏りが生じないように, 4時間毎に視覚入力を左右で交代させ続けたが, それでも左右

差が生じた。このような左右の不均衡が生まれる原因として、最初の4時間の視覚経験がかなり効果的に効いていると考えられる。即ち、最初の4時間に何らかの不可逆過程が生じ、残り1週間の交代視の結果を決定してしまったと考える。このような短時間の刺激が、幼若脳に刷り込まれ、持続的な可塑性をスタートさせる例として、鳥類におけるインプリンティングという現象がある。同様の現象は哺乳類においても報告されている (Rose, 1977; Leon, 1992)。本研究で見られた、最初の4時間が交代視の結果に大きく影響するのもインプリンティングの一種であるかもしれない。

また4時間の交代視という時間間隔をどの程度短くすれば、どちらの眼から遮蔽を開始しても左右の視覚野で対称に反応ピーク位置のズレが生じるのかといった問題が残されている。この問題は最初の視覚経験の際に生体内で何がおきているかにも深く関連している。現行の方法では大幅に交代視の時間間隔を短縮することは困難である。しかし、左右の眼にそれぞれ特定波長の光を選択的に透過させるフィルターを装着し、照明光の波長をそれぞれのフィルターのみを透過させるものに切り替えれば、電子制御によって秒単位の交代視をも実現出来るはずである。予備的な実験でこの方法を使用し、20秒間隔の交代視の効果を試したところ、反応領域のピークのずれは両側性に認められた。20秒と4時間という時間間隔の範囲の中でどこから非対称性が生まれるのかという検討は、今後の課題である。

臨界期

これまでの単眼遮蔽による眼優位可塑性研究によって、マウス視覚野の臨界期は4週齢前後であるとされている (Hensch, 2004)。しかし近年、2週齢のマウスでも何らかの眼優位性可塑性が存在すると主張する研究 (Smith and Trachtenberg, 2007) や週齢の高い大人のマウスでも可塑性が生ずるという研究もある (Baroncelli L et al., 2010; Harauzov A et al., 2010)。本研究に先立って、視覚機能がスタートした直後の2週齢のマウスや、一般的には臨界期が終了した6週齢のマウスを用いて予備的な実験を行ったが、4週齢で確認できたような、応答領域の分離は確認できなかった。従って、交代視による眼優位性可塑性も、通常の単

眼遮蔽による眼優位性可塑性もほぼ同様の臨界期を持ち、両者の間に共通の回路メカニズムが存在すると思われる。

参考文献

- 1) Antonini A, Fagiolini M and Stryker MP: Anatomical correlates of functional plasticity in mouse visual cortex. *J Neurosci* 19: 4388 - 4406, 1999.
- 2) Baroncelli L, Sale A, Viegi A, Maya Vetencourt JF, De Pasquale R, Baldini S and Maffei L: Experience - dependent reactivation of ocular dominance plasticity in the adult visual cortex. *Exp Neurol* 226: 100 - 109, 2010.
- 3) Blakemore C: The conditions required for the maintenance of binocularity in the kitten's visual cortex. *J Physiol (Lond)* 261: 423 - 444, 1976.
- 4) Cang J, Kaneko M, Yamada J, Woods G, Stryker MP and Feldheim DA: Ephrin - as a guide for the formation of functional maps in the visual cortex. *Neuron* 48: 577 - 589, 2005.
- 5) Gordon JA and Stryker MP: Experience - dependent plasticity of binocular responses in the primary visual cortex of the mouse. *J Neurosci* 16: 3274 - 3286, 1996.
- 6) Harauzov A, Spolidoro M, DiCristo G, De Pasquale R, Cancedda L, Pizzorusso T, Viegi A, Berardi N and Maffei L: Reducing intracortical inhibition in the adult visual cortex promotes ocular dominance plasticity. *J Neurosci* 30: 361 - 371, 2010.
- 7) Hensch TK: Critical period regulation. *Annu Rev Neurosci* 27: 549 - 579, 2004.
- 8) Hofer SB, Mrsic-Flogel TD, Bonhoeffer T and Hubener M: Prior experience enhances plasticity in adult visual cortex. *Nat Neurosci* 9: 127 - 132, 2006.
- 9) Hubel DH and Wiesel TN: The period of susceptibility to the physiological effects of unilateral eye closure in kittens. *J Physiol (Lond)* 206: 419 - 436, 1970.
- 10) Hubel DH, Wiesel TN and LeVay S: Plasticity of

- ocular dominance columns in monkey striate cortex. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 278: 377 - 409, 1977.
- 11) Kitaura H, Hishida R and Shibuki K: Transcranial imaging of somatotopic map plasticity after tail cut in mice. *Brain Res* 1319: 54 - 59, 2010.
 - 12) Komagata S, Chen S, Suzuki A, Yamashita H, Hishida R, Maeda T, Shibata M and Shibuki K: Initial phase of neuropathic pain within a few hours after nerve injury in mice. *J Neurosci* 31: 4896 - 4905, 2011.
 - 13) Kubota Y, Kamatani D, Tsukano H, Ohshima S, Takahashi K, Hishida R, Kudoh M, Takahashi S and Shibuki K: Transcranial photo - inactivation of neural activities in the mouse auditory cortex. *Neurosci Res* 60: 422 - 430, 2008.
 - 14) Leon M :The neurobiology of filial learning. *Annu Rev Psychol* 43: 377 - 398, 1992.
 - 15) Maffei L and Bisti S: Binocular interaction in strabismic kittens deprived of Vision. *Science* 191: 579 - 580, 1976.
 - 16) Ohki K, Chung S, Ch'ng YH, Kara P and Reid RC: Functional imaging with cellular resolution reveals precise micro - architecture in visual cortex. *Nature* 433: 597 - 603, 2005.
 - 17) Ohshima S, Tsukano H, Kubota Y, Takahashi K, Hishida R, Takahashi S and Shibuki K: Cortical depression in the mouse auditory cortex after sound discrimination learning. *Neurosci Res*, 67: 51 - 58, 2010.
 - 18) Reinert KC, Dunbar RL, Gao W, Chen G and Ebner TJ: Flavoprotein autofluorescence imaging of neuronal activation in the cerebellar cortex in vivo. *J Neurophysiol* 92: 199 - 211, 2004.
 - 19) Rose SP: Early visual experience, learning, and neurochemical plasticity in the rat and the chick. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 278: 307 - 318, 1977.
 - 20) Shibuki K, Hishida R, Murakami H, Kudoh M, Kawaguchi T, Watanabe M, Watanabe S, Kouuti T and Tanaka R: Dynamic imaging of somatosensory cortical activities in the rat visualized by flavoprotein autofluorescence. *J Physiol (Lond)* 549: 919 - 927, 2003.
 - 21) Smith SL and Trachtenberg JT: Experience - dependent binocular competition in the visual cortex begins at eye opening. *Nat Neurosci* 10: 370 - 375, 2007.
 - 22) Tagawa Y, Kanold PO, Majdan M and Shatz CJ: Multiple periods of functional ocular dominance plasticity in mouse visual cortex. *Nat Neurosci* 8: 380 - 388, 2005.
 - 23) Takahashi K, Hishida R, Kubota Y, Kudoh M, Takahashi S and Shibuki K: Transcranial fluorescence imaging of auditory cortical plasticity regulated by acoustic environments in mice. *Eur J Neurosci* 23: 1365 - 1376, 2006.
 - 24) Tohmi M, Kitaura H, Komagata S, Kudoh M and Shibuki K: Enduring critical period plasticity visualized by transcranial flavoprotein imaging in mouse primary visual cortex. *J Neurosci* 26: 11775 - 11785, 2006.
 - 25) Wiesel TN and Hubel DH: Extent of recovery from the effects of visual deprivation in kittens. *J Neurophysiol* 28: 1060 - 1072, 1965.
 - 26) Zhang B, Bi H, Sakai E, Maruko I, Zheng J, Smith EL and Chino YM: Rapid plasticity of binocular connections in developing monkey visual cortex (V1). *Proc Natl Acad Sci U S A* 102: 9026 - 9031, 2005.

(平成24年1月17日受付)