

可塑性回路形成ラボ

(Developmental Neuroscience Lab.)

研究項目：可塑性神経回路形成の研究

研究期間：平成9年度～13年度

1. はじめに

脳の可塑性とは、くだいて言ってしまうえば「頭の柔らかさ」のことである。我々が何か新しいことを憶えることも、新しい技能を習得することも、状況に応じて判断を変えることを学ぶのも、全て脳の可塑性があって初めて可能である。このような記憶や学習は人間で特に発達している能力だが、それ以外の動物でも程度の違いはあるがこの能力を持っている。それに対し、現在あるコンピュータの多くは、予め問題解決の方法を入力されている場合には正確かつ高速に問題を処理していくが、その範疇から少しでもずれた問題には対応できない。もちろんそれで問題が生じない場面も多く、現在までは可塑性の低いコンピュータが各分野で活用されているのだが、今後、より使いやすいインターフェイスを開発したり、家庭生活にまで入り込めるようなロボットを開発したりすることが要求される場合には、コンピュータにも可塑性を持たせ、「成長」させる必要がある(情報処理プロパーの分野でもそれを目指す研究は進められている)。

また、現在我々は高齢化社会に直面している。正常な老化に加えて、脳血管障害やアルツハイマー症などの疾病が脳の働きを低下させてしまうことも多い。これはせっかく蓄積されてきた、高齢者の知恵や知識、技能を埋没させてしまうことになり、社会的には大きな損失である。人間をはじめとする哺乳類では成熟した脳では神経細胞(ニューロン)の損傷に対する可塑性が小さい。これを適度に大きくすることが機能回復を実現するには重要だと考えられる。このような技術は、末梢性の障害の場合にももちろん有効であり、神経再生技術の開発、インテリジェントな義手のような運動補助装置や視覚障害の代償装置などの開発を行うためにも進展が期待される。

では、情報処理技術の観点からも医療応用の観点からも研究の発展が期待される「可塑性」とは脳内では

どのように実現されているのであろうか。現在のコンピュータは演算部と記憶部を独立に持ち、記憶部に人間が入力したプログラムを演算部が呼び出して情報処理を行っている。それに対し、生物の脳では情報を処理する部分そのものが記憶の機能も果たすと考えられている。基本的な情報処理の仕方は遺伝的に決定されており、それが環境の影響を受け(経験)、新たな情報処理法を生み出すのである(可塑性)。それを可能にしているのが脳の階層性である。シナプス部分の情報伝達系や遺伝子発現系のネットワークを基盤にして、脳の情報処理単位であるニューロンは情報処理を行う。この際に入出力関係を変えることが「ニューロンレベルの可塑性」である。多くのニューロンの秩序だった活動によって神経回路は情報処理を行い、かつ入力の変化によって処理の仕方を変えていく。これが「神経回路レベルの可塑性」である。多くの神経回路の秩序だった活動によって個体は情報処理を行い、かつ環境(他者を含む)との関係によって処理の仕方を変えていく。これが個体レベルで現れる「行動の可塑性」であり、ここまでを含む全てを合わせて「脳の可塑性」と呼ぶのが妥当であろう。入れ子構造になった各階層で、このように情報処理の「可塑性」が見られることが脳の大きな特徴の一つである。可塑性の研究は脳研究の大きな流れであるが、現状ではニューロンレベルの可塑性の分子的基盤を解明するためのものがほとんどである。我々は各階層での可塑性のメカニズムの解明を目指すとともに、階層間の橋渡しを是非実現させなければならないと考えている。

成長する情報処理システムとしての脳にとって可塑性がいかに重要であることを示す代表的な事例をあげよう。我々の視覚系は基本的には生まれる前から見るための仕組みになっている。眼球は凸レンズである水晶体とフィルムに相当する網膜を備えている。網膜からは外側膝状体という中継部位を経て大脳の第一次視覚野に情報を送れるようになっている。第一次視

覚野からはさらに高度な処理をするための視覚連合野への連絡経路がある。しかし、生まれてすぐの状態ではうまくものを見ることができない。実際にものをうまく見るようになるためには経験が必須である。たとえば、距離感を正しく認識するためにはものを両眼で見たときの視差の情報が重要である。しかし、その情報を活用するためには両眼がどれだけ離れているかの情報を脳が持っていることが必要である。しかし、両眼の距離がどれだけあるかは生まれる前にはわからない。そこで、生後のある時期(臨界期)までに左右の目からの視覚情報を照らし合わせることによって両眼視がうまくできるようになり、距離感が正しく認識できるようになる。脳の機能を全て遺伝的に決定せず、経験によって調整するこの方式の利点は、栄養状態のよしあしなどで顔の成長の具合が変わり、両眼の間の距離が異なってもそれに対応できることである。生まれつきのシステムを経験によってシェイプアップしていく方式は脳のさまざまな系で採用されている。このような方式を可能にしているのが脳の構造や機能を変化させられる「可塑性」である。可塑性は臨界期までは大きい、それを過ぎると小さくなる。感覚や運動の入出力部に近い部分は発達段階の比較的早い時期に臨界期を迎えるが、高次な認知や行動を司る部分は臨界期が遅かったり、生きている間中は可塑性が高かったりすると考えられている。

2. ラボ成立まで

これまで、我々は生体機能応用型技術開発研究「分子マーカーを用いた学習機構の研究」において、オペラント学習を行ったサル神経回路の変化を生体分子を指標にして解明する研究を行っていた。指標とする分子としては、ニューロンの軸索伸長に関わるGAP-43という成長関連タンパク質とそのmRNAに注目した。オペラント課題の一種GO/NO-GO課題を片手で遂行するように学習したサルでは、その手と反対側の前頭前野弓状部および運動前野でGAP-43 mRNA量が増加していた。これによって、行動レベルの可塑性発現である学習が成立する際に軸索伸長が起こり、神経回路が可塑的な構造変化を起こしている可能性が示唆されたが、その増加の程度はわずかであった。理由の一つは採用した方法にあると考えられた。当時は

摺り潰した脳部位の標本からRNAを抽出し、その中のGAP-43 mRNA量を定量していた。学習に関わるニューロンは該当する部位の中でもそんなに大きい割合を占めるとは考えられない。したがって、上記の定量法では本当の変化が過小評価される可能性が高いのである。この問題を解決するために、我々は本当に学習に関わるニューロンだけを精度よく調べられる非放射性 in situ ハイブリダイゼーション法の開発に取り組む必要があり、それを可塑性回路ラボで完成させた。また、特別研究「神経細胞の画像学習プロセスの研究」では、大脳皮質の発達が領野によってどのように異なるかを調べるため、胎生後期以降成熟期にいたるまでのサルの大脳皮質各領野のGAP-43 mRNAおよびSCG10 mRNA量を定量して比較した。SCG10もGAP-43同様成長関連タンパク質の一種で、軸索伸長時の微小管の制御に関わっている。この結果、大脳皮質ではどの領野でも基本的には胎生後期に軸索発達のピークがあり、生後70日くらいには軸索伸長は非常に低いレベルになることがわかった。しかし、子細に検討すると、GAP-43の関わる軸索伸長は、高次機能を司り成熟してからでも可塑性が高いと考えられる連合野では、発達の早い段階で可塑性が低下する低次感覚野よりも発達が遅いこと、手の指の精密な運動制御に関わる皮質脊髄路の発達は生後遅くまで続き、それにGAP-43が関与していることがわかってきた。

3. 研究成果

可塑性回路形成ラボでは、まず初めに特定の遺伝子がどの細胞にどのくらい発現しているかを調べるために、定量的非放射性 in situ ハイブリダイゼーション法を開発した。この手法を用い、どれが可塑性を持つ神経回路かが既知である海馬を調べ、GAP-43やSCG10という成長関連タンパク質が神経回路の可塑性のマーカーとして妥当であるか否かを検証した。可塑性のニューロンレベルの素過程の一つと考えられる長期増強現象を起こしうるシナプスではGAP-43やSCG10が発現しており、成長関連タンパク質が神経回路の可塑性のマーカーとして妥当であることがわかった。

次に、研究対象を大脳新皮質に移した。大脳新皮質では、幼若期には全般的に可塑性が高く、成熟期には連合野の方が低次感覚野よりも可塑性が高い。丁度こ

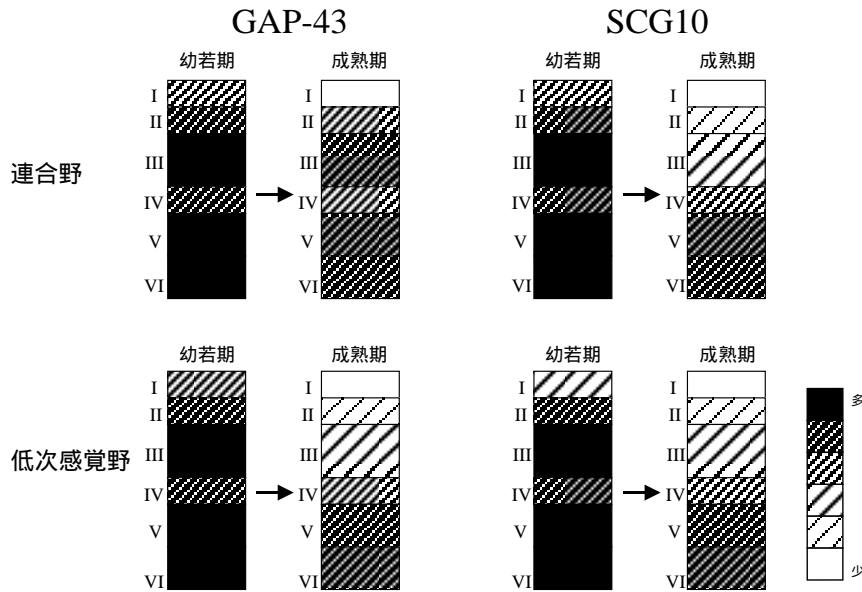


図1 大脳新皮質の断面の六層構造中のGAP-43 mRNA , SCG10 mRNAの分布
 大脳皮質は全般的に成熟期よりも幼若期に可塑性が高い。成熟期には連合野の方が低次感覚野よりも可塑性が高い。GAP-43 mRNA , SCG10 mRNAともに、幼若期には全層で多いが、成熟期には減少する。SCG10 mRNAは特にI層からIII層で著しく減少する。GAP-43 mRNAも低次感覚野ではSCG10 mRNA同様I層からIII層で著しく減少するが、連合野ではII層とIII層で比較的高いレベルが保たれている。大脳新皮質の可塑性の大小はII層とIII層のGAP-43 mRNA量と対応している。

れと対応するのが皮質の六層構造の内、浅い部分のII-III層のGAP-43 mRNA 発現細胞の分布であった(図1)。このことから、GAP-43の方がSCG10よりもより深く回路の可塑性に関わること、成熟期の連合野の可塑性の高さは皮質皮質管結合や局所回路に構造的な可塑性が維持されていることが基盤になっていることがわかった。

さらに、構造的・機能的可塑性に深く関わる成長関連タンパク質の遺伝子発現が、どのように制御されているかを明らかにする第一段階として、片眼からの視覚入力を遮断した場合の影響を視覚系で調べた。GAP-43もSCG10も、網膜から直接入力を受ける外側膝状体では遺伝子発現が減少し(図2)、その先の第一次視覚野では変化しないことがわかった。外側膝状体では成長関連タンパク質の遺伝子発現が神経活動依存性であることが確認できた。しかし、第一次視覚野のIV層では、外側膝状体と同様に片方の眼からの入力しか受けず、入力の遮断によって神経活動が低下していた部位でも遺伝子発現は減少していなかった。神経系の可塑的变化を引き起こす要因として神経活動の活発さが重要であることがこれまでも示唆されてきたが、必ずしもそれですべてが説明できるわけではない。この結果は成体における可塑性発現の機序を考察する際に有力な情報を与えるものとして注目されている。

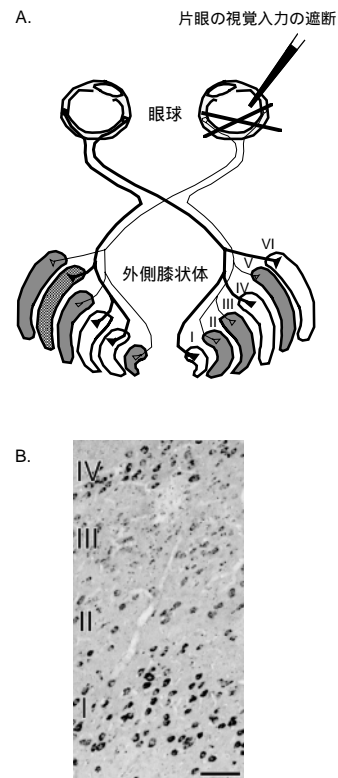


図2 A.片眼の入力を遮断すると、同側の外側膝状体では六層構造の内、II, III, V層が入力を失い、活動が低下する。
 B. 入力を遮断した眼と同側の外側膝状体でのGAP-43に対する*in situ*ハイブリダイゼーションの結果。GAP-43 mRNA陽性細胞は活動の低下したII, III層では減少していた。棒は100 μ m。

また、可塑性をになうGAP-43 mRNA発現細胞などが、神経回路の中でどのような役割を果たすかを知るために、脱抑制剤の脳内局所注入とc-Fosタンパクの免

疫組織化学との組合せによる機能的神経連絡解析法を開発した(図3)。脳の特定の部位に脱抑制剤を局所注入するとその部位が興奮し、それが軸索を伝わって標的部位のニューロンを興奮させる。その興奮をc-Fosタンパクの免疫組織化学で検出するという原理によるもので、従来のトレーサー法による神経連絡の解析が、神経線維が構造的につながっていることを検出するための静的なものであったのに対し、実際に神経興奮が伝わる回路が検出できる動的なものであるという点が優れている。

4. 展望

来年度以降は脳神経情報領域に移行し、神経回路の可塑性の制御を目指した分子・回路レベルの研究を進め、さらに長期記憶の脳内機構の理解、運動学習の脳内機構の理解を目指す研究を分子・回路・行動の各レベルの階層性を踏まえて遂行していく予定である。

神経系の可塑性は学習則自体の学習など創発的な脳機能、柔軟な情報処理を可能にしている。しかし、情報処理システムの変異性をむやみに高めれば、そのような機能が達成できるわけではない。生体でも電子的な情報処理システムでも、安定かつ柔軟な情報処理を行うためには、システムの各部分の可塑性の時空間的パターンを適正に制御する必要がある。このことから、可塑性の制御・維持機構を明らかにしようとする可塑性回路ラボの成果は、主に二つの分野に貢献できると考えている。ひとつは脳機能の改善・補償であり、もうひとつは新しい情報技術のヒントである。前者としては末梢性・中枢性の疾病や外傷によって失われた機能(感覚、運動、言語など)の回復の補助(生物医学的な手法と医療工学的手法)、神経系の老化の遅延、痴呆の改善などが期待される。後者としては、アルゴリズムの自己習得やフレーム問題の解決などが期待される。

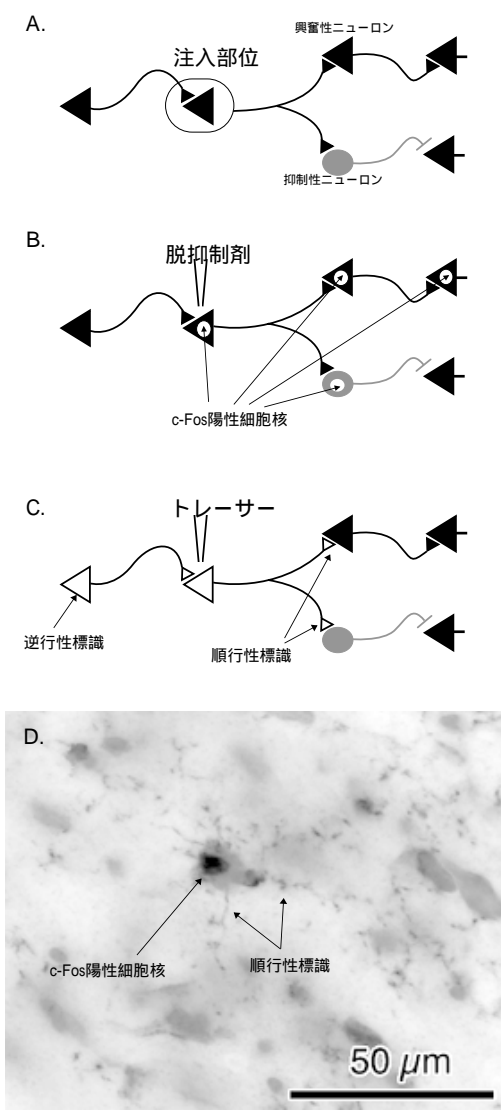


図3 A. 興奮性ニューロンと抑制性ニューロンを含む神経連絡の模式図。
 B. 我々が開発した機能的神経連絡解析法。脱抑制剤を注入すると、興奮性ニューロンの活動が軸索を伝わり、標的となるニューロンを興奮させる。興奮したニューロンはc-Fosに対する免疫組織化学で検出できる。
 C. 従来からあるトレーサー法による神経連絡解析。注入されたトレーサーは軸索によって順行性および逆行性に運ばれる。標的部位では軸索と終末が標識され(順行性標識)、入力減となる部位では細胞体が標識される(逆行性標識)。
 D. 機能的神経連絡解析法とトレーサー法を併用した実例。サルの大脳運動野に注入したトレーサーは運動前野の軸索と終末を標識した(順行性標識)。大脳運動野の活動が伝わって興奮した運動前野のニューロンの細胞核がc-Fosに対する免疫組織化学で標識されている。

参考文献

- 1) T. Oishi, N. Higo, Y. Umino, K. Matsuda and M. Hayashi : Development of GAP-43 mRNA in the macaque cerebral cortex, Dev. Brain Res. 109: 87-97, 1998.
- 2) N. Higo, T. Oishi, A. Yamashita, K. Matsuda and M. Hayashi : Gene Expression of Growth-Associated Proteins, GAP-43 and

SCG10, in the Hippocampal Formation of the Macaque Monkey:
Nonradioactive in situ Hybridization Study, Hippocampus. 8:
533-547, 1998.

- 3) N. Higo, T. Oishi, A. Yamashita, K. Matsuda and M. Hayashi :
Quantitative Non-Radioactive in Situ Hybridization Study of
GAP-43 and SCG10 mRNAs in the Cerebral Cortex of Adult
and Infant Macaque Monkeys, Cerebral Cortex. 9: 317-331,
1999.

当該研究担当者等

1) ラボ構成員(総数5名)

職員(4名) 大石高生*(情報科学部) ,河野憲二(首席研
究官) 松田圭司(情報科学部) ,近藤哲郎(超分子部)

職員以外(1名) 肥後範行(筑波大学)

2) その他の研究協力者

林 基治(京都大学霊長類研究所) ,山下晶子(日本
大学医学部)

* ラボリーダー