

氏 名 高畑 亨

学位（専攻分野） 博士（理学）

学位記番号 総研大甲第 908 号

学位授与の日付 平成 17 年 9 月 30 日

学位授与の要件 生命科学研究科 基礎生物学専攻  
学位規則第 6 条第 1 項該当

学位論文題目 A Comparative Analysis of Expression Patterns of occ1  
mRNA in Mammalian Brains  
(霊長類視覚野特異的遺伝子 occ1 の発現パターンの種間  
比較解析)

論文審査委員 主 査 教授 上野 直人  
教授 山森 哲雄  
教授 野田 昌晴  
教授 諸橋 憲一郎  
客員教授 藤沢 肇（名古屋大学）

## 博士論文の要旨

霊長類の大脳皮質は、組織解剖学的・生理的に「領野」と呼ばれる機能構造に分かれており、視覚や聴覚の情報処理や運動プランの発動あるいはそれらの統合は、それぞれに特化した領域で行っていることが分かっている。しかし、その領野がどのような分子基盤によって発生し、どの程度生後の経験によって変化するのか、成熟した領野はそれぞれにどのような分子生物学的な特徴を持っているのか、さらには、いつどのようにして進化してきたのかといった問いに関しては、未だ情報は限られている。

我々基礎生物学研究所脳生物学研究部門では、このような問いにアプローチするため、霊長類で領野特異的に発現する遺伝子の探索と、その解析を行ってきた。その結果、すでに数種の遺伝子に関して明らかな領野差があることを発見し、報告してきた。この発見は、成熟した大脳皮質の神経細胞が、領野ごとに **heterogeneous** であることを証明し、領野というものの意味や、生後発達・進化の解明において、さらなる手がかりを与えるものであると期待される。

我々がすでに報告してきたもののひとつである **occ1** は、マカクザルで、**mRNA** のレベルで他の領野より 10 倍以上多く視覚野に発現している。また、その発現は生後急速に増加し、視覚遮断によって低下することから、神経活動依存性であることが示唆されている。

霊長類は元来、視覚に頼った生活を送っており、その視覚野は、霊長類の他の感覚野、あるいは他の動物の視覚野に類をみないほど発達しており、構造も複雑で精緻なものとなっている。このことから私は、特徴的な **occ1** の発現パターンは、霊長類に特異的なものであるか、もしくはげっ歯類のバレル領域のように、発達した感覚野に特異的なものであるかも知れないという可能性に基づき、**occ1** の、大脳皮質における **mRNA** の発現パターンの種間比較解析を行った。

まず、霊長類での **occ1mRNA** の発現パターンをより詳しく知るため、**double in situ hybridization** 法を用いて、マカクの大脳皮質で解析を行った。その結果、マカクでの **occ1mRNA** の発現には2つの様式があることが明らかになった。一つは、**VGLUT1** 陽性の興奮性細胞における発現で、一次視覚野で特に顕著であるが、二次視覚野、一次体性感覚野、一次聴覚野などにも発現しており、特に視床からの直接の投射を受ける、神経活動の活発な部位に局在していた。この一次視覚野の興奮性細胞における発現は、視覚遮断による影響を強く受け、その発現レベルが低下した。もう一つの **occ1** の発現様式は、**GAD67** 陽性、特にパルブアルブミン陽性の抑制性介在神経による発現で、どの領野にも見られ、一次視覚野においては視覚遮断における影響を受けなかった。

次に、他の哺乳動物の大脳皮質で、**occ1mRNA** の発現パターンを調べた。新世界ザルであるマーモセットでは、マカクに比べてややその発現レベルは低いものの、視覚野に偏った **occ1** の発現が観察された。しかし、マウスでは、大脳皮質における **occ1mRNA** の発現レベルは全体に低く、また、ウサギやフェレットでは散発的に強い発現は見られるものの、それらは抑制性介在神経によるものであり、どの領野に限らず興奮性神経における **occ1** の強い発現はほとんど観察されなかった。

一方で、脳幹、中脳、間脳、小脳などでは、どの種においても、**occ1mRNA** の強い発現

が観察され、マカクとマウスでそのパターンを詳しく調べたところ、グルタミン酸性の感覚神経・運動神経の中継核に多いなど、共通する特徴を多く持っていることが明らかになった。

さらに、マウスで、*occ1* の発現における、視覚遮断、聴覚遮断、嗅覚遮断の影響を、外側膝状体、蝸牛神経核、嗅球でそれぞれ調べたところ、いずれも *occ1*mRNA の発現レベルに有意な変化は観察されなかった。

これらのことから、哺乳動物の祖先種においても大脳皮質の抑制性介在神経および皮質下では *occ1* を発現していたが、マカクの視覚野の興奮性細胞における神経活動依存的な *occ1* の発現は、霊長類の系統が分かれた後に獲得された発現様式であり、視覚に依存する霊長類の特徴の一つである可能性が示唆された。今後この遺伝子の発現パターンの意義、生理的役割を調べていくことにより、霊長類の大脳皮質の進化に関する理解がさらに深まるものと期待される。

また、*occ1*mRNA の発現は神経活動依存的であるだけでなく、明らかに遺伝的プログラムによって視覚野に多く発現するよう制御されており、その仕組みを明らかにしていくことで、領野の構築プランの全体像に近づくことができると考えられる。

## 論文の審査結果の要旨

申請者は、霊長類視覚野特異的発現する遺伝子として同定された $occ1$ (occipital 1)のマカカザル脳に於ける発現パターンを2重in situ hybridization法により詳細に検討した。その結果、 $occ1$ 陽性細胞には、vGlut1陽性で示される興奮性神経細胞に発現するものと、GAD67陽性の抑制性神経細胞に発現する2種類のものがあることを明らかにした。興奮性細胞特異的 $occ1$ 遺伝子発現は一次感覚野に限局し、とりわけ視覚野の視床からの入力層で強い発現が見られる。一方、GAD67陽性細胞で見られる $occ1$ 発現は、PV(パルアルブミン)陽性細胞で、大脳皮質全体に広く散在している。梶谷等は既に、サルの片眼にテトロドトキシンを注入することにより、活動が遮蔽された眼優位性カラムでの $occ1$ の発現が急速に低下することから、 $occ1$ 遺伝子の霊長類視覚野に於ける発現が活動依存的であることを報告しているが(Eur. J. Neurosci., 13, 297-307, 2001)、申請者は、こうした活動依存的発現変化が上記2種類のどのタイプで見られるかを調べた。その結果、 $occ1$ の活動依存的変化は、興奮性細胞で発現するもののみで観察され、抑制性細胞で発現するものには観察されなかった。従って、 $occ1$ の霊長類視覚野に於ける活動依存的発現は、興奮性細胞に特異的であることが明らかになった。

次に、申請者は、 $occ1$ の視覚野特異的発現が哺乳類のどのような種で見られるのかを検討するため、

マーモセット(新世界ザル)、マウス(げっ歯目)、フェレット(食肉目)、ウサギ(門歯目)の脳に於ける $occ1$ の発現パターンを調べた。その結果、マーモセットでは、 $occ1$ 発現の一次視覚野と二次視覚野に於ける明瞭な発現差が観察できるが、他の種では、そうした領野差が観察できないことを示した。一方、抑制性細胞に於ける $occ1$ の発現は、これらの種でも大脳皮質全体に広く散在する。更に、申請者は、中脳、間脳、小脳、脳幹に於ける $occ1$ の発現をマカカザルとマウスに於いて、詳細に調べ、グルタミン酸作動性の感覚・運動神経の中継核に多い等の2種で共通する特徴を見出した。マウスで、視覚、聴覚、嗅覚の各々の入力遮断後、外側膝状体、蝸牛神経核、嗅球で $occ1$ の発現を調べたところいずれも活動依存的変化をしめさなかった。

申請者のこれらの結果は、 $occ1$ の霊長類視覚野興奮性細胞に於ける発現が霊長類進化のある時期に獲得された形質であること、更に、 $occ1$ の霊長類視覚野特異的な活動依存的発現には、遺伝的にプログラムされた発現制御機構と環境入力による発現制御の2つの機構が重要であることを遺伝子発現レベルでおそらく初めて示した。本研究の霊長類興奮性細胞特異的な $occ1$ の活動依存的発現に関しては、既に、Cerebral Cortexに筆頭著者として受理されている。以上の事から、審査委員会は、本研究が学位授与に相応しい水準に達していると結論した。