

2008年8月8日

独立行政法人 理化学研究所

## 経験が脳の生後の発達を促す新たなメカニズムを発見

### - 脳を作る遺伝子が生後の脳の発達をつかさどる -

生まれてから3才くらいの間に人格の基礎が培われるとされる「3つ子の魂100まで」のことわざが、脳の成長では現実の現象として注目されています。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していきます。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いはず。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、幼児期の教育の対象ともなっています。

臨界期前に片目を防ぐと、臨界期中に、ふさいだ目からの情報よりも、開いた目のほうからの情報を多く受け取り、視覚野の神経回路が作り変えられることが明らかになっています。その結果、ふさいだ目の視力は弱くなり（弱視）、臨界期を過ぎた大人では、目の治療をしても回復しないことが知られるようになってきました。

しかし、どのような仕組みで若い脳に臨界期が現れ、大人の脳には臨界期の時期が無いのかはいまだにわかっていません。

理研脳科学総合研究センター神経回路発達研究チームは、胎児期に脳を作る遺伝子 *Otx2* が、人々の体験・経験に応じて脳を発達させる働きもあることを世界で初めて発見しました。*Otx2* を欠損させたマウスでは、胎児の脳がまったくなくなってしまうことは知られていましたが、脳を変える臨界期をつかさどる働きについては知られていませんでした。この脳を作る遺伝子 *Otx2* によって作られる *Otx2* ホメオタンパク質が、幼年期の経験の積み重ねにより、正常に臨界期を促すことがわかりました。研究チームは、*Otx2* ホメオタンパク質の量を外部から操作すると、マウスの臨界期を人為的に操作することにも成功しました。

*Otx2* ホメオタンパク質の新しい作用機構の発見が、神経疾患などの症状を軽くする新たな治療法の開発に貢献すると期待されます。

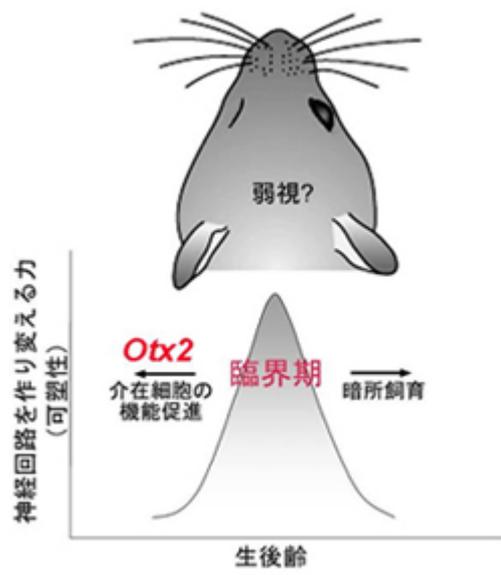


図 幼年期に脳を作り変える「臨界期」

2008年8月8日  
独立行政法人 理化学研究所

## 経験が脳の生後の発達を促す新たなメカニズムを発見

- 脳を作る遺伝子が生後の脳の発達をつかさどる -

### ◇ポイント◇

- ・胎生期に脳を作る *Otx2* ホメオタンパク質が生後に脳を変える「臨界期」をつかさどる
- ・経験により大脳に移動した *Otx2* ホメオタンパク質が大脳の発達を制御
- ・介在細胞異常を原因とする病気の新治療法開発に有益

独立行政法人理化学研究所（野依良治理事長）は、胎生期に脳を作る遺伝子 *Otx2* が、個々の経験に応じて脳を発達させる働きを持つことを世界で初めて発見しました。理研脳科学総合研究センター（田中啓治センター長代行）神経回路発達研究チームヘンシュ貴雄チームリーダー、杉山清佳訪問研究員（独立行政法人日本学術振興会海外特別研究員）らによる研究成果です。

幼年期の脳は、周りの環境から得た体験・経験に適応するように、脳の神経回路を機能的に作り変えながら発達していきます。例えば、幼い子どもが周囲で話されている言葉に接し続けると、言葉を理解し話せるように脳の神経回路を活発に作り変えていきます。このように、個々の経験により集中的に神経回路を作り変える特別な時期を「臨界期」と呼び、発達初期に特化しています。言語の発達と同様に、五感の1つである「視覚」も「見る」という経験（視覚経験）とともに発達することがわかっています。

マウスを生後から暗所で飼育して視覚経験を遮断してしまうと、視力の向上が遅れると同時に、臨界期も遅れることがわかっています。つまり個々の「見る」経験が、視覚能力を発達させ、臨界期を促すと考えられ、そのために、個々の異なった経験量をはかる「秤（はかり）」が脳内に存在すると推測されます。研究チームは、世界で初めて、胎生期に脳を作る遺伝子 *Otx2* が、幼年期にも経験量をはかる「秤」として働くことを発見しました。この *Otx2* によって作られる *Otx2* ホメオタンパク質<sup>\*1</sup>は、視覚経験によって網膜から大脳の視覚野へと運ばれ、視覚野の「介在細胞<sup>\*2</sup>」の中に蓄積されます。*Otx2* ホメオタンパク質は、介在細胞の中でも *Parvalbumin*（パルブアルブミン）タンパク質（PV）を持つ特定の介在細胞（PV陽性細胞<sup>\*3</sup>）の機能を成熟させる役割を持ち、視覚野の臨界期を促すことがわかっています。すなわち、視覚経験を積み、*Otx2* ホメオタンパク質が大脳に移動して初めて、大脳は正常に臨界期を迎え、発達するといえます。さらに、*Otx2* ホメオタンパク質の量を外部から操作し、マウスの臨界期を人為的に制御することに成功しました。*Otx2* ホメオタンパク質の新しい作用機構の発見は、神経疾患（弱視など）の症状を軽くするための新治療法の開発に貢献すると期待できます。

本研究の成果は、ヒューマン・フロンティア・サイエンス・プログラム（HFSP）と文部科学省特定領域研究「統合脳」の助成金を得て実施、米国の科学雑誌「*Cell*」（8月7日付け：日本時間8月8日）に掲載されます。

## 1. 背景

一般的に子どもの頃に音楽やスポーツ、外国語などを習い始めると、大人になってから始める場合と比べ上達・習得が早いことを、私たちは経験則として知っています。若い脳には、個々の体験・経験に応じて神経回路を活発に作り変える「臨界期」があり、臨界期に作られた神経回路は大人まで保たれる傾向にあります。

幼年期に視力が発達する過程でも、臨界期は重要な役割を果たします。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、物の立体的特徴が視覚野で正確に捉えられます。臨界期に片目をふさいで視覚経験を遮断すると、ふさいだ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ます。その結果、閉じられた目の視力は著しく弱くなり（弱視）、臨界期を過ぎた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ます。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ります。しかし、どのような仕組みで若い脳に臨界期が現れ、またなぜ大人の脳に同様の時期がないのか、いまだにわからない点が多くあります。

これまでに、研究チームは、臨界期には視覚野に存在する介在細胞の成熟が重要であることを明らかにしています（2000年プレス発表：脳の発達には抑制性の刺激が不可欠であることを発見）。介在細胞は、視覚野の神経細胞のうち20%を占め、残りの80%を占める錐体細胞<sup>\*4</sup>の働きを抑制する機能を持っています。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できるのと同じように、介在細胞（ブレーキ）が的確に錐体細胞（アクセル）を制御してこそ視覚野が上手く機能するといえます。すなわち、未熟な介在細胞が幼年期に発達し、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と考えられます。それでは、介在細胞を成熟させる仕組みとは、どのようなもののでしょうか？そして個々の体験・経験の量をはかり、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しょうか？

## 2. 研究手法と成果

Otx2 ホメオタンパク質は、胎生期に脳を作る遺伝子の1つとしてよく研究されており、この遺伝子を欠いた変異マウスでは、脳がまったくなくなってしまうことが知られています（図1左）。しかし、これほど脳に重要な遺伝子であるにもかかわらず、生後の脳におけるOtx2 ホメオタンパク質の作用はまったく不明でした。

### (1) Otx2 ホメオタンパク質、視覚経験で視覚野に出現

研究チームは、Otx2 ホメオタンパク質を認識する抗体を用いて、生後の脳におけるOtx2 ホメオタンパク質の存在を観察しました。Otx2 ホメオタンパク質は、臨界期前（生後3週齢）の大脳の視覚野には検出できず（図2上左）、臨界期（生後4週齢頃）になるとようやく観察できるようになりました（図2上右）。これまでに、研究チームは、介在細胞の中でもParvalbuminタンパク質（PV）を持つ特定の介在細胞（PV陽性細胞）の成熟が、臨界期のために必要であることを示唆してきました（2004年プレス発表3月：大脳の形成を司る神経回路網の働きを同定）。Otx2 ホメオタンパク質とParvalbuminタンパク質を同時に検出すると、Otx2 ホメオタンパク質はPV陽性細胞に局在することがわかりまし

た (図 2 上右)。面白いことに、暗所飼育したマウスの視覚野に **Otx2** ホメオタンパク質は検出できませんでした (図 2 下左)。すなわち、個々の視覚経験の量に応じて、**Otx2** ホメオタンパク質は、視覚野に現れると考えられました。さらに、暗所飼育したマウスの視覚野において **PV** 陽性細胞の発達は、著しく遅れますが、**Otx2** ホメオタンパク質をこの視覚野に注入すると (図 2 下、右上)、**PV** 陽性細胞の成熟が回復することを発見しました (図 2 下、右下)。

## (2) **Otx2** ホメオタンパク質の臨界期への影響

研究チームは、これまでに、臨界期には介在細胞 (**PV** 陽性細胞) の成熟が必要であることを示唆しています (2007 年プレス発表: 大脳皮質の発達過程における「臨界期」開始メカニズムに新たな知見)。それでは、**Otx2** ホメオタンパク質は、**PV** 陽性細胞を成熟させ、臨界期を導くのでしょうか? 臨界期に片目を閉じて視覚経験を遮断すると、閉じ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ます。そこで、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) を調べることにより、臨界期の有無を解析しました。通常、マウスの視覚野の細胞は、対極の目 (右脳に対して左目、左脳に対して右目) からの刺激情報を多く受け取ります。臨界期前の視覚野の細胞は、左目を閉じた後も左目からの情報を多く受け続けますが (図 3 左上、グループ 1~3)、臨界期中の視覚野の細胞は、開いた右目からの情報も多く受けるように回路が作り変えられます (図 3 右上)。**Otx2** ホメオタンパク質を臨界期前の視覚野に注入すると、視覚野の細胞は開いた右目の情報をより多く受け取るようになります (図 3 左中)。すなわち、**Otx2** ホメオタンパク質が臨界期を早期に活性化できることが明らかとなりました。

さらに、**Otx2** ホメオタンパク質が生後に欠損するように遺伝子操作した変異マウス (**Otx2** マウス) で、同様の解析を行いました。**Otx2** マウスでは、視覚野の細胞は閉じられた左目からの情報を多く受けつづけ、臨界期は観察できませんでした (図 3 右中)。また、このマウスに介在細胞 (**PV** 陽性細胞) の機能を促進する薬剤 (ジアゼパム) を注入すると、開いた右目の情報を多く受け取るよう神経回路が変化し、臨界期が通常どおり観察できました (図 3 右下)。つまり、**Otx2** マウスの臨界期不全は、**Otx2** ホメオタンパク質欠損による特定の介在細胞 (**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ました。

## (3) **Otx2** ホメオタンパク質、視覚経験に応じ網膜から視覚野に運ばれる

興味深いことに、**Otx2** ホメオタンパク質は、視覚野で産生されず目の網膜において多く作られることが、この遺伝子の転写産物を検出することによりわかりました (図 4 上左、上中)。標識を付けた **Otx2** ホメオタンパク質 (標識タンパク質: **Otx2-biotin**) を網膜に注入すると、標識タンパク質が、視覚野の **PV** 陽性細胞へと移動するのが認められました (図 4 下)。すなわち **Otx2** ホメオタンパク質は、視覚経験に応じて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ました。それでは、**Otx2** ホメオタンパク質が運ばれない場合は、臨界期は訪れないのでしょうか? **Otx2** ホメオタンパク質の移動を阻害する抗体

( $\alpha$ -Otx2) を注入し、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）を調べました。視覚野の細胞は、閉じられた左目からの情報を多く受けつけ、臨界期は観察されませんでした（図 5 中）。一方、Otx2 ホメオタンパク質の産生を阻害するリボ核酸 (siRNA) を視覚野に注入しても、開いた右目の情報を多く受け取るよう神経回路が作り変えられ、臨界期は正常に認められました（図 5 下）。これらの結果から、Otx2 ホメオタンパク質は視覚野において産生されておらず、視覚経験により視覚野の外（網膜）から運ばれた後、臨界期を誘導することが明らかになりました。

一連の研究結果から、Otx2 ホメオタンパク質が、「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ました（図 6）。生後の脳は一定の経験を経て初めて、脳の神経回路を活発に作り変える発達初期に特化した「臨界期」を迎えると考えられます。胎生期に脳を形作る Otx2 ホメオタンパク質は、生後の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」をつかさどるといえます。

### 3. 今後の展開

生後の脳における Otx2 ホメオタンパク質の役割が、今回世界で初めて明らかとなりました。特に、Otx2 ホメオタンパク質が経験とともに視覚野の外（特に網膜）で作られ、視覚野の介在細胞へと運ばれるという仕組みを発見したことは、まったく新しい考え方を世界に提供することとなりました。今後、生後の脳における Otx2 ホメオタンパク質のより詳しい作用機構を明らかにすることが、脳の発達をひもとくために必須と考えられます。なぜ臨界期が発達初期に特化しているのか解明されれば、弱視などの神経疾患を治療する新たな方法を模索するための、よい足掛かりになることでしょう。

今回、外部から注入した Otx2 ホメオタンパク質が、大脳の介在細胞に移動することを確認できたことは、このタンパク質が介在細胞への治療薬の運び屋として有益であることを示唆しています。Otx2 ホメオタンパク質が、介在細胞に特異的に運ばれる仕組みを明らかにできると、治療薬の運び屋としてより有用性が確かになることでしょう。さらに、Otx2 ホメオタンパク質は、直接的に介在細胞の発達を制御することが可能で、介在細胞の異常が原因と考えられる病気（自閉症、統合失調症、アルコール依存症など）を治療する方法を開発する新たな材料になると期待されます。

(問い合わせ先)

独立行政法人理化学研究所

脳科学総合研究センター

臨界期機構研究グループ

神経回路発達研究チーム チームリーダー

Takao K. Hensch (ヘンシュ 貴雄)

Tel : 048-467-9634 / Fax : 048-467-2306

脳科学研究推進部 企画課

Tel : 048-467-9596 / Fax : 048-462-4914

(報道担当)

独立行政法人理化学研究所 広報室 報道担当

Tel : 048-467-9272 / Fax : 048-462-4715

Mail : koho@riken.jp

## <補足説明>

### ※1 ホメオタンパク質

無脊椎動物から脊椎動物に至るまで、胎生期に体を形作るために必須のタンパク質。Otx2 ホメオタンパク質や Hox ホメオタンパク質を代表として、数十種類のホメオタンパク質が知られている。個々のホメオタンパク質は、胎生期に体のそれぞれの部位に特異的に局在し、体の中で細胞がどの部分を形作るべきかを決定する。Otx2 ホメオタンパク質は脳を作るように細胞の運命を決定する。Otx2 ホメオタンパク質の生後の役割が知られていなかったのと同様に、多くのホメオタンパク質の生後の働きはわかっていない。

### ※2 介在細胞

大脳皮質の神経細胞のうち、約 20% を占める抑制性神経細胞。錐体細胞の担う情報伝達を的確に抑制し、大脳皮質内の神経回路（局所神経回路）の活動を制御する。多種多様で細胞の形や機能の違いから、10 種類以上の細胞があると考えられている。細胞の種類を見分けるために、Parvalbumin タンパク質など個々の細胞種が持つ固有のタンパク質を検出する方法がよく用いられる。

### ※3 PV 陽性細胞

大脳皮質の介在細胞のうち、Parvalbumin タンパク質を内在する抑制性神経細胞。介在細胞の約 50% を占める。この細胞の形と機能から、錐体細胞の活動を強く抑制すると考えられている。

### ※4 錐体細胞

大脳皮質の神経細胞のうち、約 80% を占める興奮性神経細胞。大脳皮質の神経細胞、そして脳のほかの部位の神経細胞と互いに結合し、主に脳内の情報のやりとりを担う。この細胞がやりとりする情報の量や質は、介在細胞によって細やかに制御される。

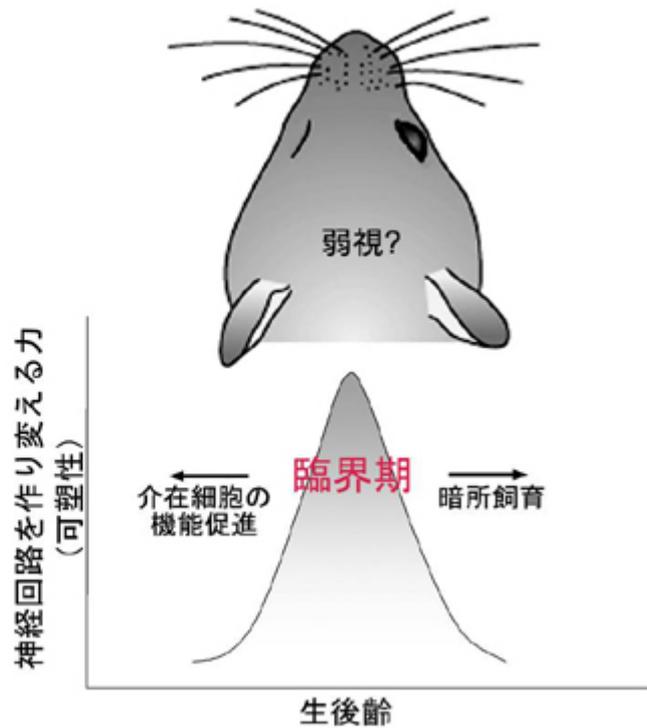


図1 Otx2 マウスと幼年期に脳を作り変える「臨界期」

- 左図： Otx2 ホメオタンパク質は、胎生期に脳を形作る働きを担う。この遺伝子が欠如した変異マウスでは、脳がまったくなくなってしまう。
- 右図： 経験に応じて脳の神経回路が活発に作り変わる「臨界期」に片目を閉じると、閉じられた目の視力は著しく弱くなってしまふ（弱視）。一方、臨界期以外の時期に片目を閉じてても視力は変化しない。臨界期の時期は、大脳の介在細胞の機能促進により早くなったり、暗所飼育という経験不足により遅くなったりする。

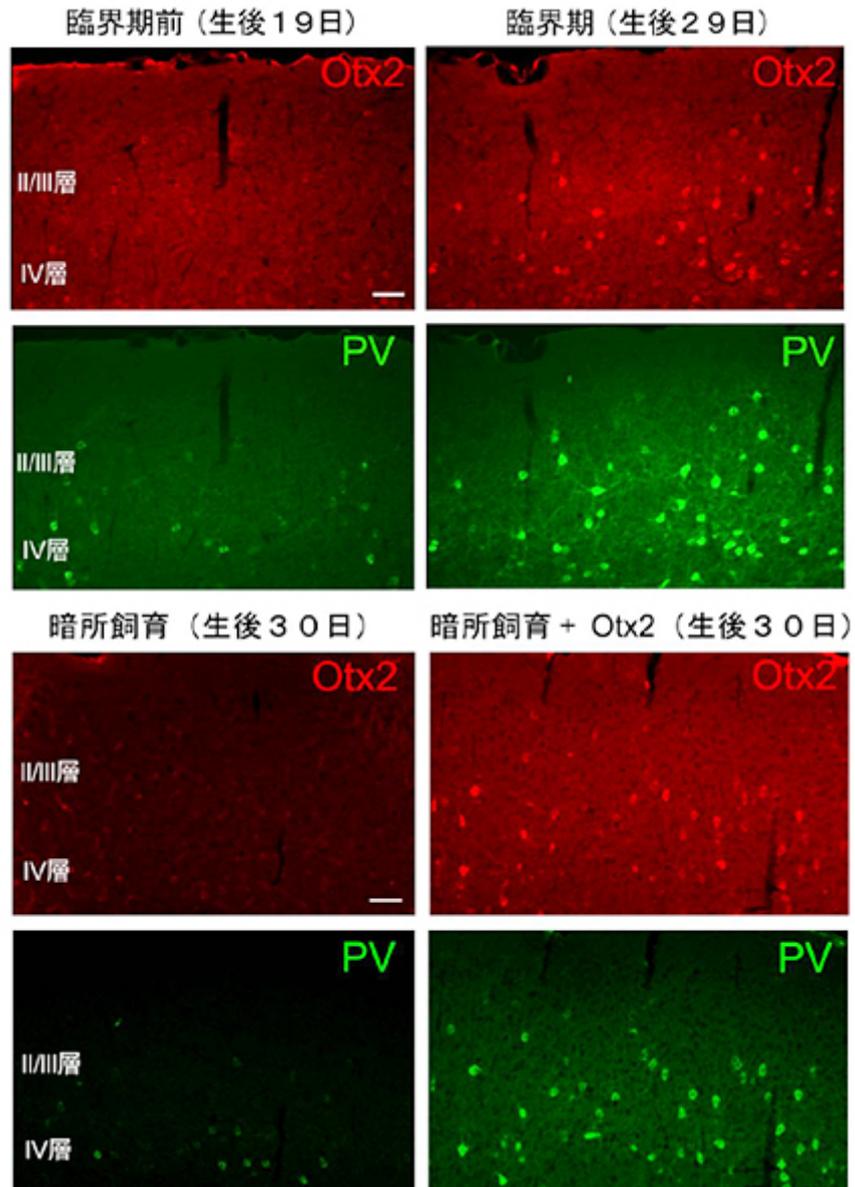


図2 経験依存的な Otx2 ホメオタンパク質の PV 陽性細胞への局在

上図： 臨界期前の大脳視覚野に Otx2 ホメオタンパク質（赤）は顕著に検出できないが（左上）、臨界期になると PV 陽性細胞の中に観察できるようになる（右上）。臨界期前の PV 陽性細胞（緑）は未発達であるが（左下）、臨界期にはより成熟して観察される（右下）。

下図： 通常臨界期を迎える日齢においても、暗所で飼育されたマウスの視覚野に Otx2 ホメオタンパク質（赤）は検出されず（左上）、PV 陽性細胞（緑）も未発達のままである（左下）。Otx2 ホメオタンパク質を暗所飼育されたマウス視覚野に注入すると（右上）、PV 陽性細胞の成熟が促される（右下）。

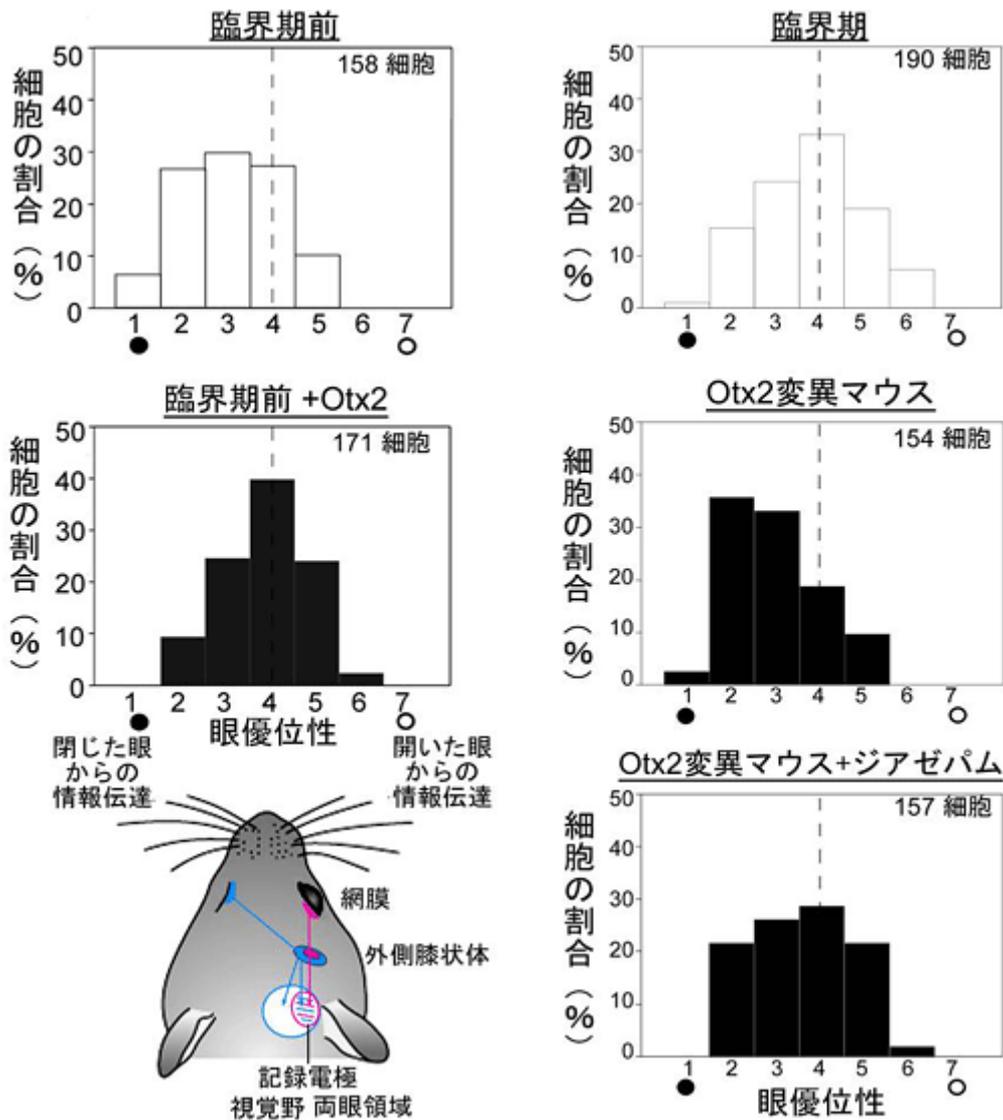


図3 Otx2 ホメオタンパク質による臨界期の活性化

両目で物を見たとき、両目からの視覚情報は脳視覚野の両眼領域において初めて統合される（左下図、斜線部）。視覚野（両眼領域）の細胞が、どちらの目からの視覚情報を多く受け取っているか（眼優位性）を検出するために、片目ずつに光刺激を与え、細胞が発する電気信号を記録する。右視覚野の細胞が、左目の光刺激にのみ反応した場合にはグループ1に、右目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5と6にはその中間値の反応を示した細胞を振り分ける。正常なマウスの右視覚野の細胞は、左目からの情報を多く受け取っており、細胞はグラフの左側（グループ1～3）に主に振り分けられる。

左上図： 臨界期前の細胞は、左目を閉じた後も左目からの情報を多く受け取り続ける。

右上図： 臨界期中の細胞は、開いた右目からの情報を多く受け取るよう作り変えられる。

- 左中図： *Otx2* ホメオタンパク質を臨界期前の視覚野に注入すると、臨界期が早期に活性化され、細胞は閉じられた目よりも開いた目からの情報を多く受け取るようになる。
- 右中図： *Otx2* ホメオタンパク質を生後に欠損するように遺伝子操作した変異マウス (*Otx2* マウス) では、臨界期は活性化されず、細胞は閉じられた左目からの情報を多く受け続ける。
- 右下図： *Otx2* マウスの臨界期は、介在細胞 (PV 陽性細胞) の機能を促進する薬剤 (ジアゼパム) により活性化され、細胞は開いた右目の情報を多く受け取るよう作り変えられる。

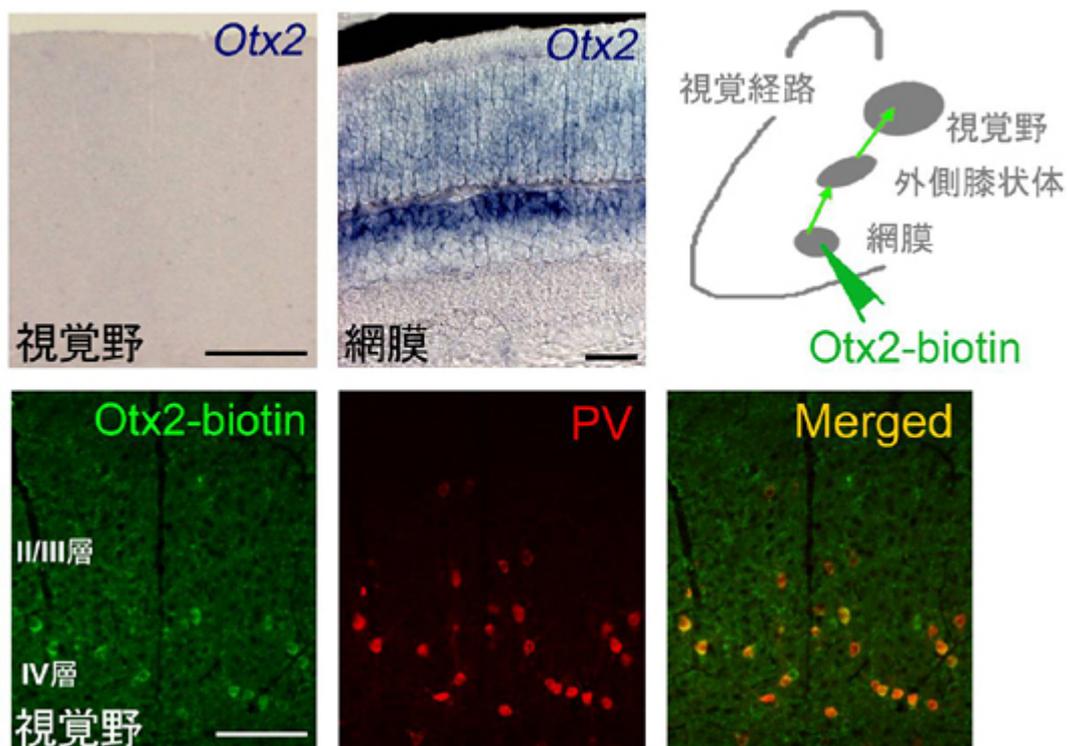


図4 *Otx2* ホメオタンパク質の網膜から視覚野 PV 陽性細胞への移動

- 左上図： *Otx2* 遺伝子の転写産物は、視覚野に検出されない。
- 中上図： *Otx2* 遺伝子の転写産物は、目の網膜に多く観察される。
- 右上図： マウスの視覚の情報伝達経路 (視覚経路)。
- 左下図： 視覚野に入った標識を付けた *Otx2* ホメオタンパク質 (標識タンパク質：*Otx2*-biotin (ビオチン))。
- 中下図： 視覚野の PV 陽性細胞。
- 右下図： 標識タンパク質と PV 陽性細胞が重なり合っている。*Otx2* ホメオタンパク質が、視覚野の PV 陽性細胞へと運ばれるのが検出された。

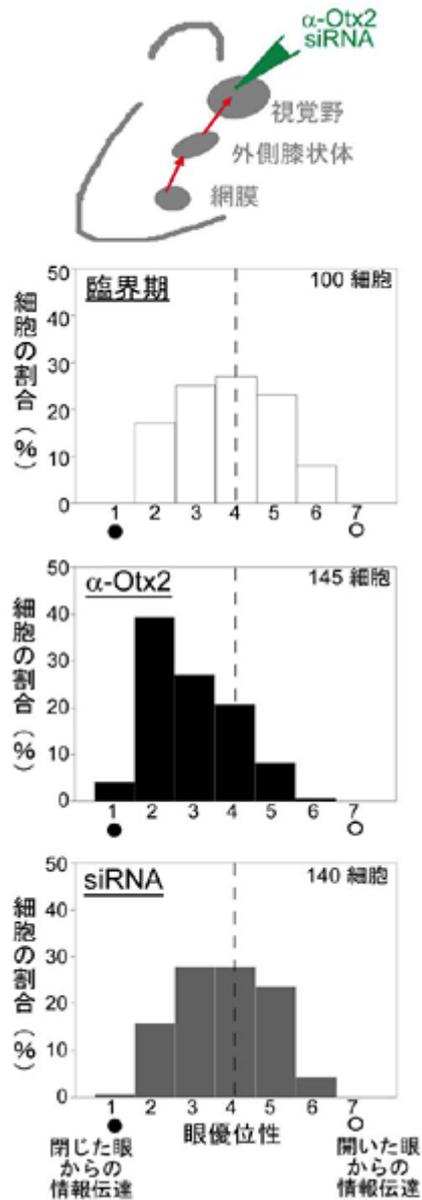
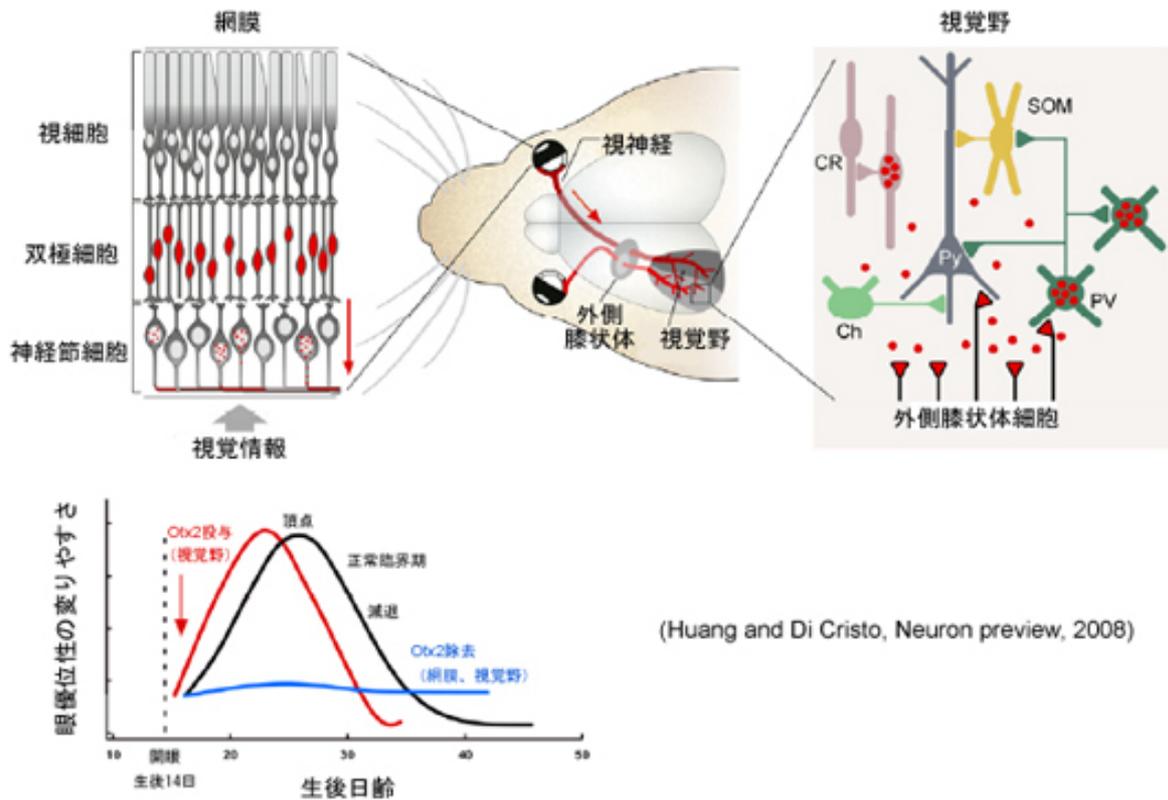


図5 臨界期を活性化する Otx2 ホメオタンパク質の移動

視覚野に Otx2 ホメオタンパク質の産生を阻害するリボ核酸(siRNA)を注入しても、臨界期は正常に活性化し、通常の臨界期（上図）と同様、視覚野の細胞は開いた右目からの情報を多く受け取るようになる（下図）。一方、Otx2 ホメオタンパク質の移動を阻害する抗体 ( $\alpha$ -Otx2) を視覚野に注入すると、臨界期は検出できず、細胞は閉じられた左目からの情報を多く受け続ける（中図）。これらの実験結果から、Otx2 ホメオタンパク質が視覚野に移動することが、臨界期の活性化に必須であることがわかる。



(Huang and Di Cristo, Neuron preview, 2008)

図6 生後の脳における Otx2 ホメオタンパク質の新機能  
(Huang, DiCristo Neuron 2008 より改変)

視覚野の外（特に網膜）で作られた Otx2 ホメオタンパク質は、視覚経験とともに視覚野へと移動し、PV 陽性細胞を成熟させて臨界期を活性化する。経験に応じて大脳の外からタンパク質が運ばれ、大脳の発達をつかさどるとい仕組みはまったく新しく、脳を作る Otx2 ホメオタンパク質はこの新しい仕組みとともに脳を作り変える「臨界期」を制御すると結論づけられる。