



Title	Role of neuronal activity in horizontal axon growth in the developing cortex : A time-lapse study using photostimulation
Author(s)	Olga, Malyshevskaya
Citation	大阪大学, 2012, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/60028
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

【 8 】

氏 名	マリシェフスカヤ オリガ Malyshevskaya Olga
博士の専攻分野の名称	博 士 (理学)
学 位 記 番 号	第 2 5 6 0 4 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 24 年 9 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 生命機能研究科生命機能専攻
学 位 論 文 名	Role of neuronal activity in horizontal axon growth in the developing cortex: A time-lapse study using photostimulation (発達期大脳皮質における水平軸索成長に対する神経活動の役割: 光遺伝学を用いたタイムラプス観察による研究)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 山本 亘彦 (副査) 教 授 村上 富士夫 教 授 藤田 一郎 准教授 田邊 康人

論 文 内 容 の 要 旨

Role of electrical activity in horizontal axon growth in the developing cortex: A time-lapse study using photostimulation

Malyshevskaya Olga¹, Shiraishi Yoshihiro¹, Edward Ruthazer² and Nobuhiko Yamamoto¹

¹Neuroscience Laboratories, Graduate School of Frontier Biosciences, Osaka University, Osaka 565-0871, Japan, and ²Dept. of Neurology & Neurosurgery, Montreal Neurological Institute, rm F121, McGill University, 3801 University St., Montreal, QC, H3A 2B4

During development, upper layer neurons in the neocortex extend axon collaterals in the same layers. These horizontally elongating axons (horizontal axons) stop growing in appropriate locations to form synaptic connections with distant cells. Neuronal activity is thought to be involved in these processes, but the role is not fully understood. Here we studied how horizontal axon growth is controlled by firing activity in organotypic slice cultures of rat cortex. For this, plasmids encoding channelrhodopsin-2 (ChR2)-EGFP and DsRed were coelectroporated into a small number of upper layer cells. Electrical activity induced by photostimulation (488 nm) was monitored using multielectrode dishes. Axonal growth was observed by time-lapse confocal microscopy with different excitation (560 nm) at 10-20 min intervals for several hours. We found that firing activity of cortical cells was elicited by photostimulation with short durations (50-200 ms). During the first week in vitro, when spontaneous activity is low, DsRed and ChR2-expressing axons grew constantly. Once repetitive photostimulation (4-10 Hz) for 1 min was applied to soma or axons, most transfected axons paused growing. In contrast, low frequency stimulation did not elicit the stop behavior. These results suggest that increasing firing activity suppresses horizontal axon growth and alters the developmental mode.

Key words: horizontal axon, axon growth, photostimulation, neuronal activity; cortical development

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

申請者は、大脳皮質内の神経回路の一つである水平結合の神経活動依存的な形成機構について研究を行った。これまでに、その基盤となる表層ニューロンの軸索投射に神経活動が関与していることが示されているが、軸索成長に対する役割については明らかにされていなかった。この問題を解明するため、皮質スライス培養で表層ニューロンを蛍光タンパクで可視化すると共に、チャネルロドプシンにより活動電位を人為的に発生させ、その軸索成長をタイムラプス観察した。げっ歯類の生後間もない時期から表層ニューロンは水平軸索を伸長させるが、この培養においても一定した速度で成長した。ところが、高頻度の刺激により活動電位を発生させると、成長が30分程度停止した。それに対して、低頻度の刺激では軸索成長の停止は見出されなかった。また、テトロドトキシン存在下では、刺激を加えても、軸索停止は観察されなかった。以上より、皮質表層ニューロンは神経活動が活発になるにつれて軸索成長が抑制されることが示された。本研究成果は、発達期の大脳皮質において神経活動が軸索成長に対して抑制的に働くことにより、特異的な神経回路形成に貢献することを示唆するものとして学術的に意義ある結果であり、学位に値するものと認める。