Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2025-07-19

感受性期における片眼摘出ラット大脳視覚野でのパルブアルブミンの発現

波田，順次
山本，節

(Citation)
神戸大学医学部紀要,59(1/2/3/4):83-90

(Issue Date)
1999-03

(Resource Type)
departmental bulletin paper

(Version)
Version of Record

(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/00177415

感受性期における片眼摘出ラット大脳視覚野でのパルブアルブミンの発現

波田順次*，山本　節*

＊神戸大学大学院医学研究科眼科学
（担当：山本　節教授）
〒650-0017 神戸市中央区楠町7丁目5－2
TEL：078-341-7451（内線5682）
FAX：078-361-3154

（平成11年1月7日受付）

要　約

視覚の発達には感受性期が存在し，弱視の治療はその感受性期内に行うことが肝要である。現在，弱視治療の中心は屈折矯正と健眼遮蔽法であり，感受性自体に作用する薬物治療は行われていない。新しい有効な弱視治療を開発するためには，感受性期における視覚入力に対する神経学的指標を得ること，あるいは大脳視覚野での神経可塑性の細胞・分子機構，特に，カルシウムイオンの働きを解明することが重要である。そこで本研究では，片眼摘出した感受性期のラットにおいて，大脳視覚野での両眼競合の神経学的指標とされているパルブアルブミン蛋白質とmRNAの発現を調べた。これまでの報告とは異なり，パルブアルブミンの発現は感受性期内の片眼性の視覚入力遮断による影響を受けず，少なくともラットにおいては，パルブアルブミンの発現調節は神経細胞の活動性や視覚入力の両眼競合に一義的には依存しないと結論した。感受性期に眼優位可塑性を形成する過程で，パルブアルブミン独自の調節機構やGABA作動性神経細胞系を含んだ調節機構によって，パルブアルブミンの発現が視覚入力の変化によらず，一定に維持されることが重要な意味を持つと考えられた。

緒　言

生後早期の視覚経験は視覚中枢の緻密な機能構築に大きく影響することが知られている。Hubel とWiesel[1]は，仔ネコの片眼遮蔽によって視覚皮質における両眼性細胞の数が減少し，その生理的変化は生後発達の初期の感受性期にのみ起こることを示した。以来，片眼遮蔽を行った動物は，形態覚遮断弱視のよい動物モデルと考えられ，弱視発生機序の解明と有効な治療法の研究に用いられている[2~6]。このような感受性期の視覚野における神経可塑性の細胞・分子機構の一つとして，セカンドメッセンジャーとしての細胞内カルシウムイオンは，視覚野において重要な役割を持つことが示唆されている[7, 8]。カルシウムイオンのいくつかの重要な生理学的機能の調節に必要とされる特異的な細胞内物質として，神経細胞は，パルブアルブミン・カルビンディン D28-k・カルレチニンなど種々のカルシウム結合蛋白質を含んでいる[9]。これらのカルシウム結合蛋白質の中でパルブアルブミンは，特に中枢神経系に広く分布し，カルシウムイオンに対する緩衝作用や細胞内での輸送という役割を持つと考えられている[9, 10]。さらに，パルブアルブミンはGABA作動性神経細胞に存在しており[11]，パルブアルブミン陽性細胞は，ラット視覚野におけるGABA作動性神経細胞の50.8%を占めている[12]。Cellerino らは1992年に，感受性期内の片眼遮蔽は遮蔽眼の反対側視覚野の両眼性領域に限局してパルブアルブミンに対する免疫組織反応性の著明な減少を引き起こし，その効果が視覚入力の競合現象によると報告した[13]。弱視，特に形態覚遮断弱視の成立機序と新しい治療を考える上で，感受性期の視覚入力の実験操作に対して特異的に変化する分子生物学的指標を得ることは極めて重要である。そこで，我々は片眼遮蔽におけるパルブアルブミン蛋白質およびmRNA発現と大脳視覚野の神経可塑性との関連について詳細な検討を加えた。

キーワード：感受性期，弱視，可塑性，パルブアルブミン，GABA

対象と方法

1．免疫組織染色

Long-Evans系ラット6匹を用いた。3匹に対して開眼直前の生後14日目にハロセン・笑気によるガス麻酔と0.25%マーカインを用いた眼窩部の局所麻酔下で片眼の摘出を行い，残りの3匹は無処置のまま飼育した。片眼摘出を行ってから1か月後で感受性期のほぼ終了する生後45日目に[14]，ペントバルビタールの腹腔内投与による深麻酔下で経心的に4%パラホルムアルデヒドを用いて灌流固定を行い，視覚野を含む大脳組織を摘出した。その後，4%パラホルムアルデヒドでの後固定と，30%シュクロースに浸漬して凍結保護を行った。これらの大脳組織を凍結させ，ミクロトームを用いて厚さ50μmの切片を作製した。無処置のラットに対しても，同様に生後45日目に灌流固定を行って切片を作製した。各切片は0.02%過酸化水素水，0.3%トライトンX-100®を含むリン酸緩衝液で室温にて2時間，さらに2%標準ヤギ血清，0.3%トライトンX-100®，10%ブロックエース®を含むリン酸緩衝液にて室温で1時間の前処置を行った。次に，抗パルブアルブミン抗体（1：20000に希釈）を含むリン酸緩衝液にて4℃で12時間振盪した。2次抗体としてビオチン化抗体で30分振盪後，標準的なABC法を用いて免疫組織染色を行った。隣接する切片を用いて，ニッスル染色と最初期遺伝子zif268蛋白質（Zif268）に対する免疫組織化学染色を同時に行い，一部の隣接切片に対して別のカルシウム結合蛋白質カルビンディンD−28kに対する免疫組織化学染色を同時に行った。抗Zif抗体は1：10000，抗カルビンディンD−28k抗体は1：5000に希釈し4℃で12時間振盪して上記と同様の手法にて染色した。切片は，250μm置きに免疫組織反応性を検討した。視覚野の片眼性領域（Ocl M）と両眼性領域（Ocl B）の各領域は，Reidらの記述に従いニッスル染色標本で決定した[15]。各標本をコンピュータ画像解析システム（PROVIS AX-HDTV，OLYMPUS Co.，Japan）に取り込み，幅500μmで皮質全層のパルブアルブミン免疫陽性細胞数を各領域6カ所ずつ測定した。視覚野のOcl MとOcl Bの両領域でパルブアルブミンとZif268の免疫組織反応性を比較検討した。

2．ノーザンハイブリダイゼーション

Long-Evans系ラット6匹を用いた。開眼直前の生後14日目にハロセン・笑気によるガス麻酔，および0.25%マーカインを用いた眼窩部の局所麻酔下で片眼の摘出を行った。片眼摘出を行ってから1か月後の生後45日目に，断頭により視覚野を含む大脳組織を摘出した。すぐに視覚野を選別（脳梁後端から後方で大脳縦裂から幅5mmの部位）し，視覚野の脳組織から全RNAをAGPC（acid guanidine isotiocyanate-phenol chloroform）法にて抽出した[16]。各組織から15μgのRNAを1%アガロース／0.44M ホルムアルデヒド・ゲルにローディングし電気泳動を行った。泳動後，RNAをナイロンフィルター（ハイボンドN®）に転写し固定した。ナイロンフィルターを室温で2日間プレハイブリダイゼーションし，[α-^{32}P]dCTPで標識したパルブアルブミン・プローブ（Paul Epsteinより贈呈）を用いて42℃でハイブリダイゼーションした。各フィルターは62℃で洗浄し，−80℃で2日間X線フィルムに暴露させた。同様に[α-^{32}P]dCTPで標識したG3PDHとzif268のプローブを用いて大脳視覚野での発現量を調べた。これら各mRNAの発現のシグナルをNIH imageを用いてコンピュータ解析した。パルブアルブミンとzif268のmRNA発現量を標準化するために，単位G3PDH mRNA当たりの各mRNA発現量（パルブアルブミン／G3PDH比，zif268／G3PDH比）をとり，得られた結果についてWilcoxon符号付順位検定を用いて統計学的に有意差検定を行った。

結　果

1．免疫組織染色

眼球摘出を行わなかった対照群では，生後45日のラット視覚野におけるパルブアルブミン免疫陽性細胞は，Ⅰ層を除いてⅡ層からⅥ層までほぼ均等に分布していた。Ⅰ層ではパルブアルブミン免疫陽性細胞が散在する程度であったが，点状に染色される神経繊維が明瞭に認められた。Ⅱ層からⅥ層では，Ⅱ／Ⅲ層の神経繊維叢が最も強く染色され，Ⅴ層の神経繊維叢の染色性が最も弱かった（図1A，B）。片眼摘出群でも，生後45日のラット視覚野におけるパルブアルブミン免疫陽性細胞は，左右両視覚野においても対照群と同様な分布を示した。パルブアルブミン免疫陽性細胞は，Ⅰ層では少数存在するのみであり，Ⅱ層からⅥ層までほぼ均等な分布を示した（図1C，D）。片眼性領域（Ocl M）と両眼性領域（Ocl B）での測定領域当たりの免疫陽性細胞数は，対照群のOcl Mで59.33±5.13個（平均±標準偏差），Ocl Bで60.0±6.0個であった。片眼摘出群では，非摘出眼に対応する視覚野のOcl Mで62.33±2.16個，Ocl Bで59.17±5.49個で，摘出眼に対応する視覚野のOcl Mで60.33±1.86個，Ocl Bで58.67±3.45個であった。免疫陽性細胞数は，対照群と片眼摘出群の間に有意な差はなく（Kruskal-Wallis検定，

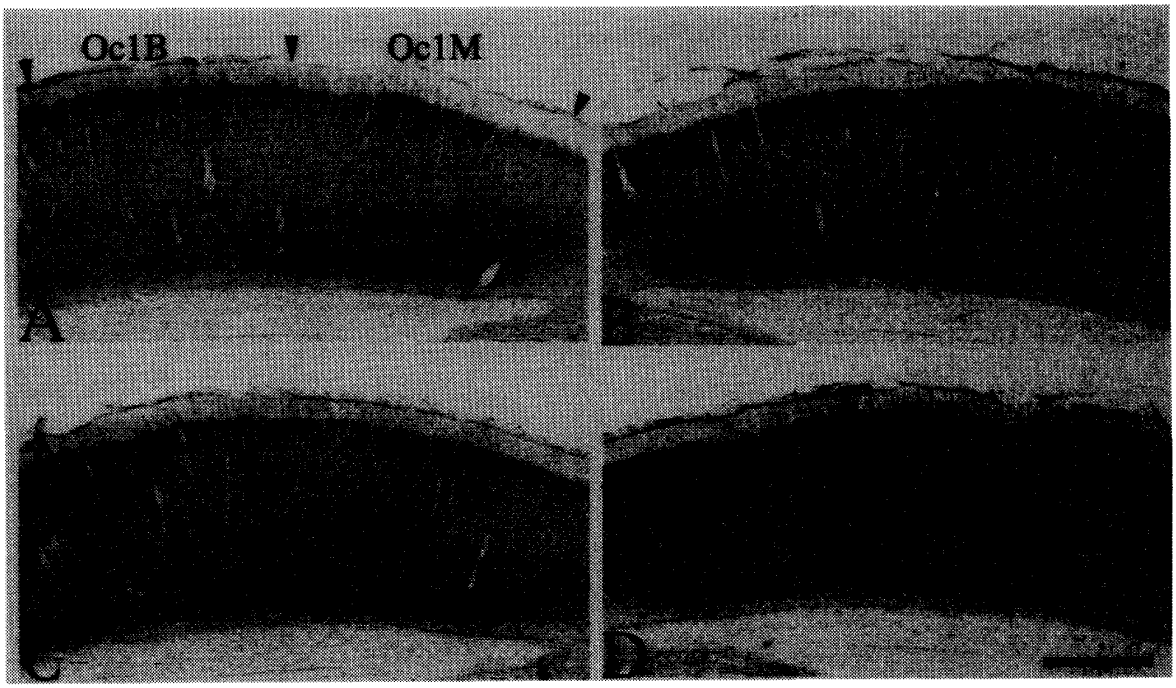

図1　視覚野におけるパルブアルブミン免疫組織染色
　対照群を（A）と（B）に，片眼摘出群を（C）と（D）に示す。Oc1MとOc1Bはそれぞれ視覚野の片眼性領域，両眼性領域を示す。パルブアルブミン免疫陽性細胞は，Ⅰ層を除いてⅡ層からⅥ層までほぼ均等に分布し，神経繊維叢はⅡ／Ⅲ層で最も強く染色された。バーは500μm。

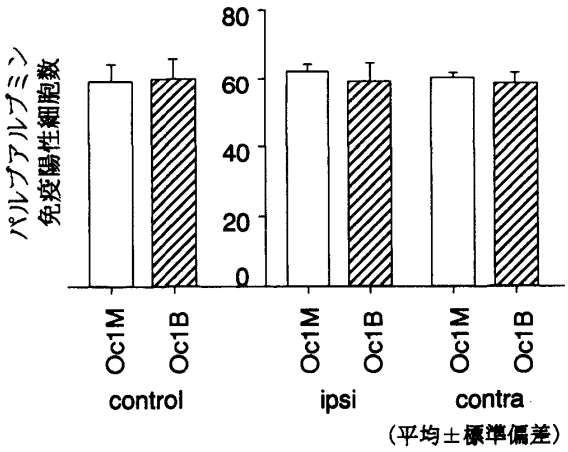

図2　パルブアルブミン免疫陽性細胞数
　片眼摘出群のパルブアルブミン免疫陽性細胞数は，左右視覚野で統計学的に有意な差はなかった（Wilcoxon符号付順位検定，$p<0.05$）。

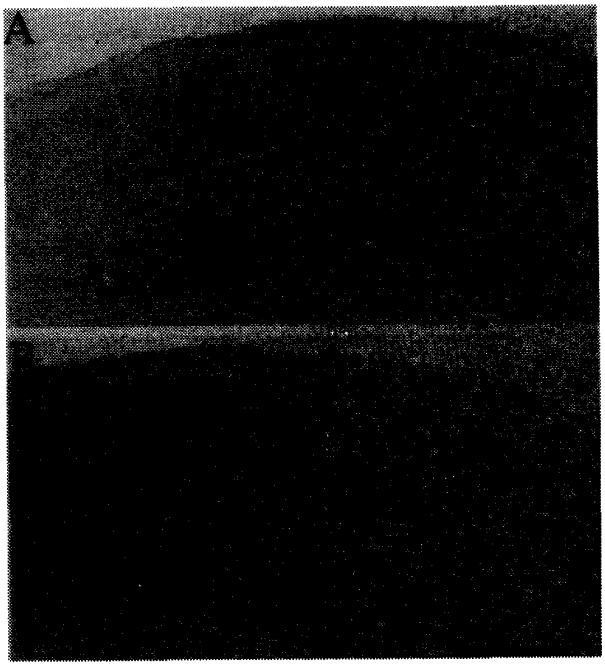

図3　Zif268免疫組織染色
　Zif268に対する免疫組織反応性は，摘出眼球に対応する視覚野全体でZif268の免疫陽性細胞数と反応性が減少しており，特にⅡ／Ⅲ層とⅤ層で明らかであった。バーは500μm。

$p>0.05$），片眼摘出群の左右皮質でも統計学的に有意な差はなかった（Wilcoxon符号付順位検定，$p>0.05$）（図2）。

Zif268に対する免疫組織反応性は，摘出眼球に対応する視覚野全体でZif268の免疫陽性細胞数と反応性が減少しており，特にⅡ／Ⅲ層とⅤ層で明らかであった（図3）。

一方，視覚野に限らず大脳皮質の各部位で散発性にパルブアルブミン免疫陽性細胞の減少する領域が認められた（図4A）。幅200μmから1500μmの範囲で56％の実験ラットに部分的にでも大脳皮質に免疫反応性

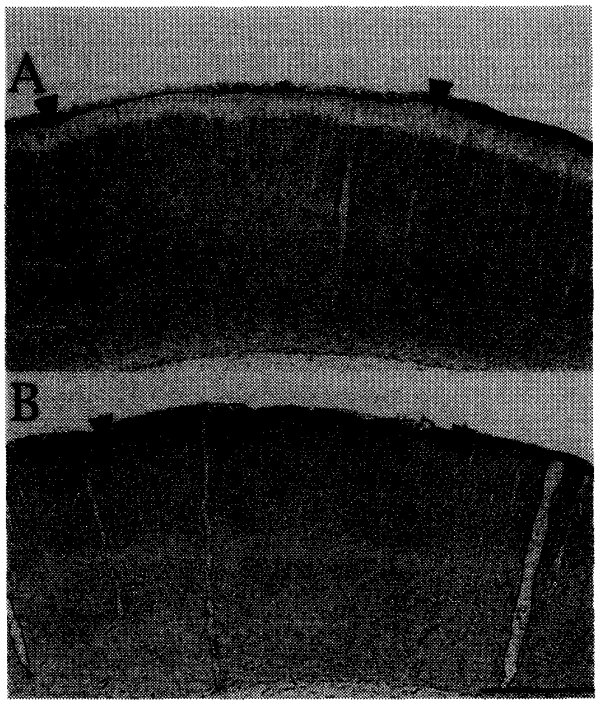

図4　散発性にみられるパルブアルブミン免疫陽性細胞の減少

（A）散発性のパルブアルブミン免疫陽性細胞の減少（▼の範囲）。（B）隣接切片のカルビンディンD-28k免疫組織反応性には変化がない（▼は対応する範囲を示す）。バーは500μm。

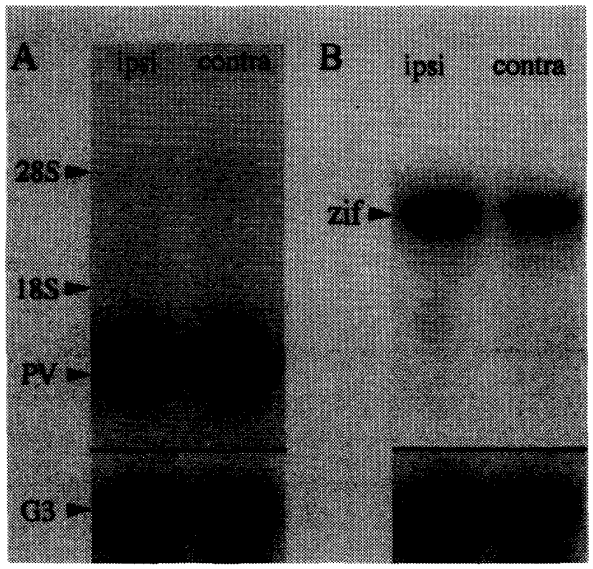

図5　ノーザンハイブリダイゼーション

（A）パルブアルブミンmRNAの発現。（B）zif268 mRNAの発現。ipsi は非摘出眼に，contraは摘出眼に対応する視覚野を示す。

の減少がみられた。パルブアルブミン免疫陽性細胞の減少のみられた切片の隣接切片をカルビンディンD-28kの免疫組織反応性を調べると，免疫陽性細胞数の減少などの変化はなかった（図4B）。

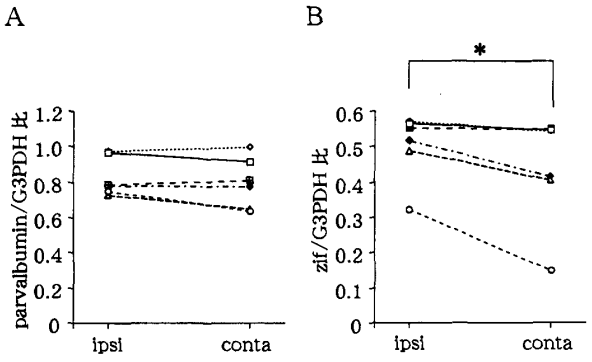

図6　パルブアルブミンmRNAとzif268 mRNAの発現

パルブアルブミンmRNAの発現は，片眼摘出群の両視覚野で統計学的な有意差はなかった。zif268 mRNAの発現は，摘出眼に対応する視覚野で，非摘出眼に対応する視覚野に比べて統計学的に有意に減少していた（Wilcoxon符号付順位検定，$p<0.05$）。

2．ノーザンハイブリダイゼーション

パルブアルブミンmRNAは，リボゾーム18Sおよび28S mRNAを基準として，これまでラットで報告されている通り[17]，0.7kbで各視覚野に発現していた（図5A）。パルブアルブミン／G3PDH比は，摘出眼に対応する視覚野では0.80±0.14（平均±標準偏差）であり，非摘出眼に対応する視覚野では0.83±0.11であった（図6）。両群間に統計学的な有意差はなかった（Wilcoxon符号付順位検定，$p>0.05$）。zif268／G3PDH比は，摘出眼に対応する視覚野では0.411±0.104で，非摘出眼に対応する視覚野では0.323±0.151であり（図6），摘出眼に対応する視覚野でzif 268 mRNAの発現が統計学的に有意に減少していた（Wilcoxon符号付順位検定，$p<0.05$）。

考　察

1．第一次視覚野での片眼摘出による変化

これまで，パルブアルブミンは齧歯類・ネコ・サルの第一次視覚野の神経細胞に発現することが示されている。Blümckeらは[18]，成熟サルの第一次視覚野においてパルブアルブミン免疫陽性細胞数に変化はないが神経繊維叢の免疫組織反応性が片眼摘出後の脱神経された眼優位カラムで減少することを報告している。また，Carderらはサルにおいてテトロドトキシンを投与した眼球に対応する眼優位カラムのパルブアルブミン免疫組織反応性が低下することを報告している[19]。

これらサルでのパルブアルブミン免疫組織反応性の低下は，視覚野の機能カラムにおける神経活動性の減少とパルブアルブミン発現調節の関係を現しており，眼優位可塑性との関係が示唆されている。このような眼優位可塑性との関係について，Cellerinoらはラットで片眼の眼瞼縫合による遮蔽が遮蔽眼の反対側視覚野の両眼性領域に限局したパルブアルブミン免疫組織反応性の著明な減少を引き起こし，その効果が視覚入力の競合現象によるものであるとして，パルブアルブミンの片眼遮蔽に対する神経学的指標としての重要性を報告している[13]。しかしながら，今回の我々の結果からは，視覚の感受性期に片眼摘出を行っても，視覚野におけるパルブアルブミン免疫陽性細胞数は，Oc1MとOc1Bの両領域で統計学的に有意な減少を認めず，パルブアルブミンmRNAの発現にも視覚野での有意な変化は認められなかった。Cellerinoらの実験方法とは眼瞼縫合による片眼遮蔽と片眼摘出という違いはあるが，片眼摘出は片眼からの入力を完全に遮蔽することになり，起こりうる変化が神経活動や両眼競合に依存するものであれば，眼瞼縫合による遮蔽の効果と同等かより大きい変化が大脳視覚皮質に起こるものと考えられる。

片眼摘出によって対応する皮質への入力が実際に減少しているかどうかを調べるために，神経細胞の活動性にその発現が依存しているとされる最初期遺伝子zif268の発現を調べた。これまで行われた片眼遮蔽によるzif268mRNAの解析では，Oc1MおよびOc1Bの視覚野全体に発現の減少が報告されている[20]。我々の実験では，Zif268の免疫組織反応性は摘出眼球に対応する視覚野全体に低下していたが，特にⅡ／ⅢとⅤ層での発現が減少していた。また，Zif268免疫陽性細胞数の変化に一致して，zif268 mRNAの発現も，摘出眼球に対応する視覚野で反対側視覚野に比較して有意に減少した。これらの結果から，片眼摘出によって対応する視覚野への入力の減少が確かめられた。

Bearらは[21]，仔ネコでは片眼遮蔽によってglutamic acid decarboxylase（GAD）の免疫組織反応性に変化のないことから，GABA作動性システムは外側膝状体の活動性と独立していることを示唆している。我々の結果もBearらの考えを支持するものであり，少なくともラットにおいては，パルブアルブミンの発現調節は神経細胞の活動性や視覚入力の両眼競合に依存しないものと結論した。

2．視覚野におけるパルブアルブミンの機能

GABA作動性神経細胞系は眼優位可塑性の調節に重要な役割を担っていることが知られている。たとえば，$GABA_A$レセプターの拮抗薬であるビククリンを仔ネコの視覚野に投与すると片眼遮蔽後生じるべき非遮蔽眼へ眼優位性のシフトが起こらなくなる[22]ことや，成熟サルでは遮蔽眼の眼優位カラム内のGABAとGADの免疫反応性神経細胞の数が片眼遮蔽あるいは片眼摘出によって減少したとする報告がある[23]。一方，仔ネコにおいては片眼遮蔽によってGADの免疫組織反応性に変化が認められないとの報告もあり[21]，GABA作動性神経細胞と視覚野の神経可塑性との関係は議論のあるところである。

カルシウム結合蛋白質パルブアルブミンはラット大脳皮質においてほとんどがGABA作動性神経細胞に存在しており[24,25]，視覚野のGABA作動性神経細胞の50.8%がパルブアルブミン免疫陽性細胞で占められている[12]。これらの報告は視覚野においてパルブアルブミン免疫陽性細胞が比較的多く存在していることを示しているが，現在のところパルブアルブミンの生理学的役割はまだ十分に明かではない。

視覚野においてパルブアルブミン発現が安定していたことは，視覚刺激によって細胞内に流入したカルシウムイオンと速やかに結合して神経細胞の過分極を減少させ興奮性を回復する[24]という緩衝作用としての役割が中心であることを示すのかもしれない。また，Hendryらが記述しているように[23]，片眼性の視覚遮蔽は神経細胞の変性を引き起こしたりその代謝を全般的に減退させるなど一様な変化を示さずに物質によってその発現パターンが異なることもあると考えられる。すなわち，GABAの変化とパルブアルブミンの変化が平行しないとしても不思議ではない。感受性期に視覚野の機能構築を形成する過程でパルブアルブミン独自の調節機構あるいはGABA作動性神経細胞系を含んだ調節機構によって，パルブアルブミンの発現が一定に維持されることが，むしろ重要な意味を持つと考えられた。パルブアルブミンの果たす役割として，緻密な神経構築を作る感受性期に急激な細胞内カルシウム濃度の変化からGABA作動性神経細胞の細胞死を免れたり，GABA作動性神経細胞の重要な機能であるカルシウム依存性のシナプス可塑性の維持に重要な働きをしているのではないかと考えられた。

謝　辞

稿を終えるにあたり，御指導を賜りました大阪バイオサイエンス研究所今村一之先生に深謝致します。

文　献

1) Wiesel, T.N., Hubel, D.H.: Single-cell responses in striate cortex of kittens deprived of vision in one eye. J. Neurophysiol. 26 : 1002-1017, 1963.

2) Ikeda, H., Wright, M.J.: Is amblyopia due to inappropriate stimulation of the "sustained" pathway during development?. Br. J. Ophthalmol. 58 : 165-175, 1974.

3) Blakemore, C., Van Sluyters, R.C.: Reversal of the physiological effects of monocular deprivation in kittens: further evidence for a sensitive period. J. Physiol. 237 : 195-216, 1974.

4) Murphy, K.M., Michell, D.E.: Bilateral amblyopia after a short period of reverse occlusion in kittens. Nature. 323 : 536-538, 1986.

5) Michell, D.E., Murphy, K.M., Dzioba, H.A., Horne, K.A.: Optimization of visual recovery from early monocular deprivation in kittens: implications for occlusion therapy in the treatment of amblyopia. Clin. Vis. Sci. 1 : 173-177, 1986.

6) Michell, D.E.: The long-term effectiveness of different regimens of occlusion on recovery from early monocular deprivation in kittens. Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. 333 : 51-79, 1991.

7) Lisman, J.: A mechanism for the Hebb and the anti-Hebb processes underlying learning and memory. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 86 : 9574-9578, 1989.

8) Tsumoto, T.: Long-term potentiation and long-term depression in the neocortex. Prog. Neurobiol. 39 : 209-228, 1992.

9) Baimbridge, K.G., Celio, M.R., Rogers, J.H.: Calcium-binding proteins in the nervous system. Trends. Neurosci. 15 : 303-308, 1992.

10) Celio, M.R.: Calbindin D-28k and parvalbumin in the rat nervous system. Neuroscience. 35 : 375-475, 1990.

11) Celio, M.R., Heizmann, C.W.: Calcium-binding protein parvalbumin as a neuronal marker. Nature. 293 : 300-302, 1981.

12) Goncher, Y., Burkhalter, A.: Three distinct families of GABAergic neurons in rat visual cortex. Cereb. Cortex. 7 : 347-58, 1997.

13) Cellerino, A., Siciliano, R., Domenici, L., Maffei, L.: Parvalbumin immunoreactivity: a reliable marker for the effects of monocular deprivation in the rat visual cortex. Neuroscience. 51 : 749-753, 1992.

14) Fifkova, E.: Effect of unilateral deprivation on visual centers in rats. J. comp. Neurol. 140 : 431-438, 1970.

15) Reid, S.N.M., Juraska, J.M.: The cytoarchitectonic boundaries of the monocular and binocular areas of the rat primary visual cortex. Brain Res. 563 : 293-296, 1991.

16) Chomczynski, P., Sacchi, N.: Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thyocyanate-phenol-chloroform extraction. Anal. Biochem. 162 : 156-159, 1987.

17) Epstein, P., Means, A.R., Berchtold, M.W.: Isolation of a rat parvalbumin gene and full length cDNA. J. Biol. Chem. 261 : 5886-5891, 1986.

18) Blümcke, I., Weruaga, E., Kasas, S., Hendrickson, A.E., Celio, M.R.: Discrete reduction patterns of parvalbumin and calbindin D-28k immunoreactivity in the dorsal lateral geniculate nucleus and the striate cortex of adult macaque monkeys after monocular enucleation. Vis. Neurosci. 11 : 1-11, 1994.

19) Carder, R.K., Leclere, S.S., Hendry, S.H. C.: Regulation of calcium-binding protein immunoreactivity in GABA neurons of macaque primary visual cortex. Cereb. Cortex. 6 : 271-287, 1996.

20) Sheng, M., Greenberg, M.E.: The regulatiaon and function of c-fos and other immediate early genes in the nervous system. Neuron. 4 : 477-485, 1990.]

21) Bear, M.F., schmechel, D.E., Ebner, F.F.: Glutamic acid decarboxylase in the striate cortex of normal and monocularly deprived kittens. J. Neurosci. 5 : 1262-1275, 1985.

22) Ramoa, A.S., Paradiso, M.A., Freeman, R.D.: Blockade of intracortical inhibition in kitten striate cortex: effects on receptive

field properties and associated loss of ocular dominamce plasticity. Exp. Brain. Res. 73 : 285-296, 1988.

23) Hendry, S.H.C., Jones, E.G.: Reduction in number of immunosteined GABAergic neurones in deprived-eye dominance columns of monkey area 17. Nature. 320 : 750-753, 1986.

24) Celio, M.R.: Parvalbumin in most γ-amino-butyric acid containing neurons of the rat cerebral cortex. Science. 231 : 995-997, 1986.

25) Demeulemeester, H., Arckens, L., Vandesande, F., Orban, G.A., Heizmann, C.W., Pochet, R.: Calcium binding proteins and neuro-peptides as molecular markers of GABAergic interneurons in the cat visual cortex. Nature. 320 : 750-753, 1986.

Parvalbumin expression by monocular enucleation in the visual cortex during the sensitive period in rats

Yoritsugu Hada, Misao Yamamoto

Department of Ophthalmology, Kobe University School of Medicine
5-2 Kusunoki-cho, 7 chome, Chuo-ku, Kobe, 650-0017, Japan

ABSTRACT

Monocular deprivation during the sensitive period causes functional alteration in the visual cortex. Animals deprived vision in one eye have been regarded as a good model of the pattern deprivation amblyopia. A current treatment of amblyopia is performed by the correction of refractive error of the amblyopic eye and occlusion of fellow one. In order to develop a more efficient treatment for amblyyopia, it is important to elucidate crucial molecules for the regulation of ocular dominance plasticity by use of this animal model. In the present study, we have tried to prove a hypothesis whether parvalbumin, a calcium-binding protein, is a useful marker for assessing the effect of the monocular deprivation in the rat visual cortex. Monocular enucleation of Long-Evans rats was performed at postnatal 14 day, just before natural eye opening. After one month of survival, animals were examined the expression of parvalbumin protein and mRNA in the primary visual cortex. There was no significant reduction in the rat visual cortex contralateral to enucleated eye, suggesting that the expresiion of parvalbumin in the visual cortex is not regulated by binocular competition. It is probably important that GABAergic neurons are involved in the expression of parvalbumin during sensitive period. We also noticed that some sporadic reduction in parvalbumin expression was found throughout the cerebral cortex, suggesting that other factors except visual activity play some role for the regulation of parvalbumin expression by maintaining GABAergic function. Therefore, parvalbumin may protect GABAergic neurons from the cell death by an acute elevation of intracellular Ca^{2+} concentration and be involved in the calcium-dependent synaptic plasticity.