

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 5 月 31 日現在

機関番号：32651

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2017

課題番号：26780411

研究課題名(和文)海馬局所ネットワーク回路におけるオシレーションメカニズムの検討

研究課題名(英文)Mechanism of oscillation in the hippocampal microcircuit

研究代表者

鈴木 江津子(Suzuki, Etsuko)

東京慈恵会医科大学・医学部・助教

研究者番号：60424313

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：海馬で観察されるシータオシレーションとガンマオシレーションの発生機序について検討した。急性海馬スライス標本を用い、アセチルコリン受容体作用薬投与によりシータオシレーションを誘導した。シータオシレーション発生中に観察されるガンマオシレーション帯域での神経細胞の発火活動は、グルタミン酸受容体の1種であるカイニン酸受容体阻害薬の事前投与により阻害された。

研究成果の概要(英文)：The induction mechanism of theta oscillation and gamma oscillation in the hippocampus was examined. Acute hippocampal slices were obtained from mice or rats, and the acetylcholine receptor agonist carbachol was perfused to induce theta oscillation. Electrophysiological recordings were carried out in hippocampal CA3 pyramidal neurons. Stable theta oscillation was induced by carbachol at a perfusion temperature of 33-35 °C. In some cases, transient gamma oscillation was also induced during a theta oscillation cycle. Carbachol-induced gamma oscillation was suppressed by a kainite-type glutamate receptor blocker.

研究分野：生理心理学

キーワード：海馬 オシレーション

1. 研究開始当初の背景

脳の海馬領域が記憶に重要な役割を果たしているということが、ヒトの健忘症例や動物実験から示唆されている (Alvarez et al., 1994; Corkin, 2002)。Hebb (1949) は記憶の生理学的基盤として、シナプス前細胞がシナプス後細胞を頻繁にまたは持続的に十分活性化させる場合、シナプス部に変化が生じ、その後シナプス後細胞を活性化させる効率が高まるという仮説を提唱した。この Hebb の仮説を支持する現象として、海馬のシナプス伝達効率の長期的な増大である長期増強があげられる。海馬長期増強は、海馬で見られる長期にわたる神経伝達効率の可塑的变化であり、記憶の生理学的基礎の有力な候補と考えられている (Bliss & Collingridge, 1993)。

現在までに長期増強を誘導する内因性の誘導機構は明らかとなっていないが、シータオシレーション (4-12 Hz) とよばれる規則的な正弦波の発火活動パターンが、海馬長期増強を誘導する内因性メカニズムとして有力視されてきた (Lynch et al., 1990)。シータオシレーションは、中隔野やブローカの対角帯からのコリン作動性および GABA 作動性入力により駆動されると考えられている (Hasselmo et al., 2002)。中隔野破壊により海馬シータオシレーションの発生が阻害されたラットでは空間課題の学習が困難であり (Winson, 1978)、ヒトを用いた脳磁図研究においてもスクリーン上に映された円形のバーチャル水迷路課題を遂行する際に、海馬におけるシータオシレーション帯域の活動が増加する (Cornwell et al., 2008)。シータオシレーションとは別に、ガンマオシレーション (30-80 Hz) も認知的な脳機能に関与していると考えられている (Nyhus & Curran, 2010)。海馬スライス標本において、アセチルコリン受容体作用薬のカルバコール投与のみならずカイニン酸型グルタミン酸受容体作用薬のカイニン酸や代謝型グルタミン酸受容体作用薬の DHPG 投与などグルタミン酸作動性入力によってもガンマオシレーションが生じる。ガンマオシレーションの発生メカニズムは、シータオシレーションと同様に興奮性神経細胞と抑制性神経細胞の活動によって生じていると考えられている。しかし、シータオシレーションにおいてもガンマオシレーションにおいても、オシレーションの発生・維持に対してコリン作動性入力とグルタミン酸作動性入力がどのように関連しているのかは明確ではない。

2. 研究の目的

Huxter ら (2007) は、活動中のラット海馬よりシータオシレーションを記録している際、カイニン酸型グルタミン酸受容体阻害薬 UBP304 がシータオシレーションのピーク周波数を減衰する効果を持つことを報告している。このピーク周波数の減少は、抑制性介

在ニューロン上に発現しているカイニン酸受容体の活性化が阻害されることにより生じているのではないかという仮説が提案されているが、詳細なメカニズムは明らかではない。海馬スライス標本を用いた *in vitro* の実験系では、アセチルコリン受容体作用薬であるカルバコールを灌流投与することにより海馬下位領域である CA3 野においてシータ波が誘導される (Konopacki et al., 1988)。そこで、急性海馬スライス標本を用い、コリン作動性入力によるシータオシレーション発生に対して、カイニン酸型グルタミン酸受容体がどのように関与しているのかを検討することで、海馬オシレーション活動におけるコリン作動性およびグルタミン酸作動性入力の相互作用を探る。またシータオシレーション中に発生するガンマオシレーションにカイニン酸型グルタミン酸受容体が関与するについても検討する。

3. 研究の方法

マウスまたはラットの脳より、急性海馬スライス標本作製し、細胞外フィールド電位記録法またはパッチクランプ法を用いた電気生理学的記録を海馬 CA3 錐体細胞から行った。シータオシレーションは、アセチルコリン受容体作用薬であるカルバコールを細胞外灌流することにより誘導した。ガンマオシレーションはカイニン酸型グルタミン酸受容体の作用薬であるカイニン酸を低濃度 (300 nM) で細胞外灌流することにより誘導した。細胞外フィールド電位記録によるオシレーションの解析は、記録したデータを高速フーリエ変換し、シータオシレーション帯域およびガンマオシレーション帯域のパワー値を算出した。カレントクランプモードを用いたパッチクランプ法では、海馬 CA3 錐体細胞の活動電位の発火頻度を求めた。

4. 研究成果

カルバコール投与によるシータオシレーションの誘導条件について、カルバコール濃度および細胞外液の灌流温度について検討を行った。灌流液の温度は室温と生理的温度を比較した結果、33 度から 35 度で最もよくオシレーションが誘導された。カルバコールの投与濃度は、50 μM では一過的に顕著なオシレーションが誘導されたがその後消失した。一方で 20 μM では持続的なオシレーション活動が誘導された。誘導されるオシレーションはシータオシレーション帯域が主であったが、ガンマオシレーション帯域の活動も観察された。ガンマオシレーションは、グルタミン酸受容体の 1 種であるカイニン酸受容体の作用薬を投与することにより誘導できる。カイニン酸受容体作用薬であるカイニン酸を灌流投与すると頑健なガンマオシレーションが観察された。このガンマオシレーションは、カイニン酸受容体選択的阻害薬投与によりパワ

ー値の減少が認められた。
シータオシレーション中に発生するガンマオシレーションの発生メカニズムについて検討するため、カルバコール投与前にカニン酸受容体を構成するサブユニットであるGluK2/GluK5を含有するカニン酸受容体選択的阻害薬であるUBP310(3 μM)を事前投与したところ、シータオシレーション中に発生するガンマオシレーション帯域での活動電位の発生頻度が低下した。一方でシータオシレーション帯域での活動電位の発火頻度が上昇した。これらの結果は、アセチルコリン受容体活性化により誘導されるオシレーション活動にグルタミン酸受容体が関与することを示しており、アセチルコリンとグルタミン酸のクロストークを示唆する。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計2件)

Suzuki, E. & Kamiya, H. 2016 PSD-95 regulates synaptic kainate receptors at mouse hippocampal mossy fiber-CA3 synapses. *Neuroscience research*, 107, 14-19.

Suzuki, E. 2014 Cholinergic modulation for hippocampal long-term potentiation. *動物心理学研究*, 64, 37-41.

[学会発表](計13件)

Suzuki, E. & Momiyama, T. M1 receptor-mediated presynaptic inhibition of GABAergic transmission from striatal medium spiny neurons onto cholinergic interneurons. 第95回日本生理学会大会 2018年3月28日

Suzuki, E. & Momiyama, T. Inhibition of GABAergic transmission onto striatal cholinergic interneurons by M1 receptor activation. *行動* 2017 2017年8月30-31日

Suzuki, E. & Momiyama, T. Postsynaptic G-protein cascade is not required for the inhibitory cholinergic modulation of GABAergic transmission onto striatal cholinergic interneurons. 第40回日本神経科学学会大会 2017年7月20日

Suzuki, E. & Momiyama, T. Muscarinic inhibition of GABAergic transmission onto striatal cholinergic interneurons involves M1 receptor activation. 第94回日本生理学会大会

2017年3月28日

Suzuki, E. & Momiyama, T. Inhibition of GABAergic transmission onto striatal cholinergic interneurons via muscarine 1 receptor activation. 第90回日本薬理学会年会 2017年3月15日

Suzuki, E. & Momiyama, T. GABAergic transmission onto striatal cholinergic interneurons is inhibited by muscarine receptor activation. 第39回日本神経科学大会 2016年7月20日

Suzuki, E. & Momiyama, T. Modulation of GABAergic transmission onto striatal cholinergic interneurons via muscarinic receptors. 10th FENS forum of European neuroscience, 2016.7.5

Suzuki, E. & Momiyama, T. Muscarine receptor-mediated inhibition of GABAergic transmission onto striatal cholinergic interneurons. 日本生理学会第93回大会 2016年3月22日

Suzuki, E. MY FIRST ORAL PRESENTATION IN ENGLISH. (シンポジウム) 日本心理学会第79回大会 2015年9月22日

Suzuki, E. & Kamiya, H. Input specificity of giant miniature EPSC in hippocampal CA3 neurons. 日本生理学会第92回大会 2015年3月21日

Suzuki, E. & Kamiya, H. Reduced kainate receptors at hippocampal mossy fiber synapse in PSD-95 knockout mice. *Neuroscience* 2014, 2014.11.19.

鈴木江津子・神谷温之 ニューロンシミュレーターを用いた海馬苔状線維の興奮伝播モデルの改良 生理学会北海道地方会 2014年8月30日

Suzuki, E. & Kamiya, H. Suppression of gamma frequency oscillation by a selective blocker of kainate-type glutamate receptor in CA3 region of mouse hippocampus. 日本動物心理学会第74回大会 2014年7月19日

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<https://researchmap.jp/esuzuki/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鈴木 江津子 (SUZUKI, Etsuko)
東京慈恵会医科大学・医学部・助教
研究者番号：60424313