

平成 22 年 6 月 8 日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2008 ～ 2009
 課題番号：20700298
 研究課題名（和文）前頭皮質局所回路における興奮性細胞と抑制性細胞の情報処理の解明
 研究課題名（英文）The mechanism of excitatory neuron and inhibitory neuron in local circuit of frontal cortex
 研究代表者
 高田 美絵子（森島 美絵子）(TAKADA MIEKO)
 生理学研究所・大脳皮質機能研究系・助教
 研究者番号：30435531

研究成果の概要(和文):大脳皮質の神経回路は、興奮性細胞と抑制性細胞から構成されている。大脳皮質神経回路を明らかとするうえで、興奮性細胞と抑制性細胞がどのように情報伝達を行っているのかを明らかにすることは重要である。そこで、詳細な皮質回路の解明のために、2種類の興奮性細胞と特定の性質をもつ抑制性細胞がどのように互いに情報伝達しているかを調べたところ、抑制性細胞と興奮性細胞間の情報伝達は興奮性細胞のサブタイプに依存して異なることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文): In cerebral cortex, cerebral circuits are composed of excitatory neurons and inhibitory neurons. To reveal the mechanism of the cerebral circuits, it is important to study how the excitatory neuron and inhibitory neurons communicate each other. I investigated the connection pattern of two groups of pyramidal cells and specific inhibitory neurons. I found that the specific inhibitory neurons selectively innervate the two groups of pyramidal cells.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：神経科学一般

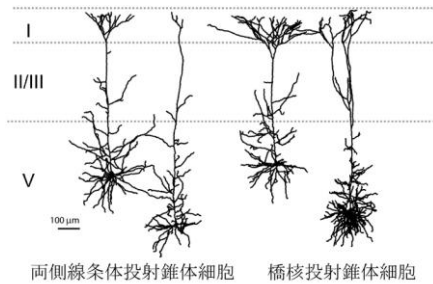
キーワード：大脳皮質 神経回路、興奮性細胞、抑制性細胞

1. 研究開始当初の背景

(1)大脳皮質は、興奮性細胞（錐体細胞）と抑制性細胞から構成されている。興奮性細胞（錐体細胞）は、2層から6層にかけて存在し各層ごとに軸索の投射先、形態、細胞の電気的性質が異なり、特に5層の錐体細胞は皮質下の様々な領域に軸索を投射しているこ

とが知られている。これらの興奮性細胞を中心として、機能に応じた神経回路サブグループが存在すると考えられている。しかしながら、興奮性細胞を分類し、その興奮性細胞と抑制性細胞とがどのような情報処理を行っているかについての研究はほとんどされていなかった。

(2) 研究代表者は以前に、前頭皮質における興奮性細胞を分類し、興奮性細胞間の神経回路について報告した (Recurrent connection patterns of corticostriatal pyramidal cells in frontal cortex, Morishima M, Kawaguchi Y, J. Neurosci, 26: 4394-4405, 2006)。簡潔にまとめると① 前頭皮質5層の投射先に依存した2種類錐体細胞の形態は、樹状突起、ア、皮質1層のタフト部位及び、イ、基底樹状突起において異なっていた (図1)。



(図1)

② 2種類の線条体投射錐体細胞間のシナプス結合には方向性がみられた。(両側線条体投射錐体細胞同士及び、両側線条体投射錐体細胞から橋核投射錐体細胞へは結合がみられたが、橋核投射錐体細胞から反対側線条体投射錐体細胞への結合はほとんどみられなかった。) ③ 結合が見られたペアについてシナプス結合部位について解析したところ、コンタクト部位に差がみられた。両側線条体投射錐体細胞はシナプス結合するターゲット先の細胞種によって選択的に結合部位を変えることが明らかとなった。以上の結果より、2種類の神経細胞間の結合には細胞のタイプ、及び、結合のドメイン選択性があることが明らかとなった。

本実験課題では、この神経回路を用いてどのように抑制性細胞が関わるのかを明らかにしたいと考えた。

感覚野のように機能的カラムをもたない皮質領野において、このような投射先に依存した選択的な神経回路を用いて詳細な神経回路を明らかにすることは機能的意義を調べる上で非常に重要であると考えられる。

2. 研究の目的

大脳皮質の神経回路では、興奮性細胞、抑制性細胞が互い複雑にシナプス結合し、興奮性、抑制性のバランスを保ち、皮質の活動が行われていることが明らかとなってきている。これをふまえ、以前に研究代表者が報告した、投射先によって分類をした2種類の錐体細胞に対して抑制性細胞の入力様式がどのようになっているか、興奮性-抑制性の機能的意義を明らかにすることを目的として研究課題に取り組んだ。

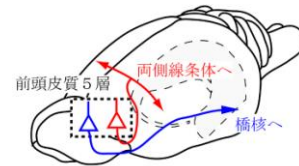
3. 研究の方法

神経回路における情報伝達・処理のメカニズムを理解するためには、構成細胞間のシナプス特性や結合様式を明らかにすることが必須である。

(1) 構成細胞の分類と標本の作成

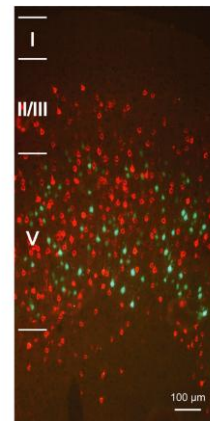
① 興奮性細胞の分類

前頭皮質5層の錐体細胞群には大きく二つの異なる投射先を持つこととサブグループがある (図2) ことに着目し、分類した。



(図2)

19-23日齢のラットを全身麻酔し、in vivoの状態、線条体もしくは橋核に逆行性蛍光色素をピコポンプによって圧注入する。逆行性色素は、錐体細胞の軸索の投射先の領域に注入することによって、細胞体へと逆行性に運ばれるため、軸先の投射先に応じて(両側線条体投射錐体細胞 (図2、赤色) と橋核投射錐体細胞 (図2、青色) の分類が可能となる。

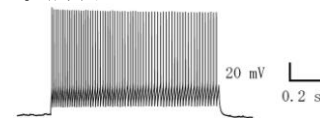


逆行性標識した2種類の興奮性細胞 (図3)

② 抑制性細胞の分類

抑制性細胞は発火パターン、化学マーカ及び、形態で多様なサブグループに分けられることが知られている。所属している研究室が開発を行った

GABA細胞(抑制性細胞)を選択的に蛍光標識したトランスジェニックラットを使用し、記録時に、図4に示した発火特性を確認することによってFast-spiking(FS)細胞を特定した。



FS細胞の発火パターン

(図4)

逆行性色素をトランスジェニックラットに注入し、前頭皮質からスライス切片を作成し、蛍光標識標本作成した。

(2) 興奮性細胞と抑制性細胞のシナプス特性及び、結合様式の解析

標本作成の後、2種類の興奮性細胞と抑制性細胞（FS細胞）の情報伝達、処理の仕方を明らかにするために電気生理学的手法を用いた。同定した2細胞もしくは3細胞同時ホールセル・パッチクランプ記録を行った。抑制性細胞（FS細胞）と興奮性細胞（両側側線条体投射錐体細胞もしくは、橋核投射錐体細胞）の2細胞、もしくは抑制性細胞（FS細胞）と同種の2つの興奮性細胞（両側側線条体投射錐体細胞と両側側線条体投射錐体細胞、もしくは、橋核投射錐体細胞と橋核投射錐体細胞）の3細胞の組み合わせでホールセル・パッチクランプ記録を行った。

興奮性と抑制性間のシナプス電流、及び、短期可塑性、結合確率についてそれぞれ調べ、比較した。電気生理実験時にバイオサイチンを含めた電極内液を用い、実験終了後、固定し、再切を行い、細胞内染色を行い、標本を作成し、一部の細胞について細胞の再構築を行った。

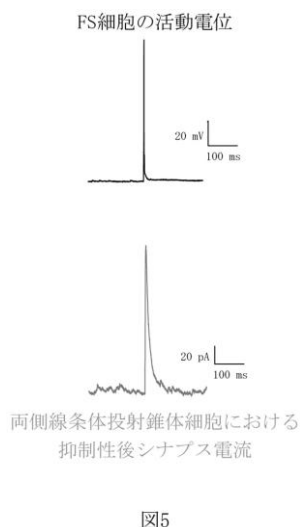
4. 研究成果

2種の興奮性細胞（両側側線条体投射錐体細胞と橋核投射錐体細胞）と抑制性細胞のサブグループ内で50%以上を占めるFast-spiking (FS)細胞とのシナプス結合パターンを多重ホールセル記録することによって調べた。

図5に示したように、FS細胞に活動電位をひきこし、興奮性細胞の抑制性後シナプス電流がみられたときに、シナプス結合がみられたとして、解析を行った。それぞれの興奮性細胞への抑制性入力（結合確率）を調べた。FS

細胞から両側側線条体投射錐体細胞、橋核投射錐体細胞への結合確率は共に、約25%程度であった。また、同時に、興奮性細胞から抑制性細胞への興奮性入力を調べたところ、錐体細胞のサブタイプによらず、FS細胞に興奮結合する錐体細胞は、そのFS細胞から抑制を受ける確率が高くなることが明らかとなった。また、短期可塑性について調べたところ、興奮性細胞にサブタイプによらず、ほぼ同じ性質がみられた。

図5の抑制性後シナプス電流が見られた興奮



性細胞と抑制性細胞の組み合わせを記録終了後、染色し、形態を再構築したものが図6である。灰色：両側側線条体投射錐体細胞の樹状突起、及び、細胞体、黒：FS細胞の樹状突起と細胞体、赤：FS細胞の軸索である。FS細胞の軸索は非常に密度が高く、局所的な抑制性入力を興奮性細胞に対して行うと考えられる。

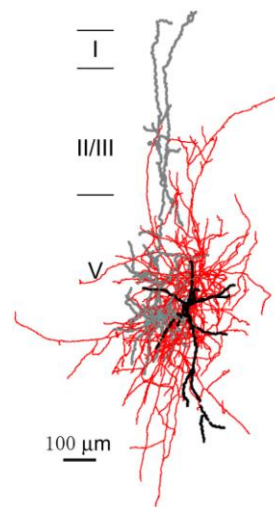


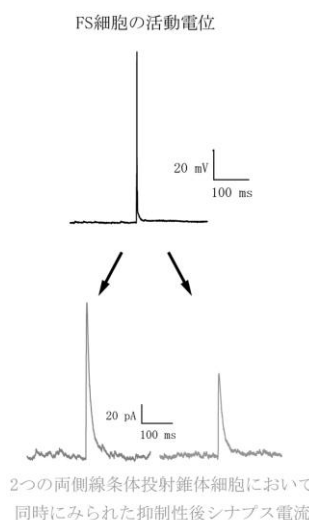
図6

次に、投射先に依存した錐体細胞サブグループの神経

回路の最小単位に、どのように抑制性入力を行うのかについて、詳細に検討するために3細胞同時記録を行った。

図7に示したように、一つのFS細胞から2つの同種の興奮性細胞への同時入力を調べた。FS細胞の一発の活動電位に対して、二つの興奮性細胞に抑制性後シナプス電流が同期して見えたときに、抑制性細胞が興奮性細胞に同期入力していたとして解析を行った。このよう入力が見える確率は、2種類

の錐体細胞共に低かった。また、興奮性細胞が近距離であれば、必ず同期入力があるわけではないことも明らかとなった。単一FS細胞からの2個の錐体細胞への抑制の強さが、サブタイプの組み合わせに依存する可能性があることがわかった。これらの結果から、興奮性細胞の投射先に依存した性質が、抑制性シナプス形成に影響を与え、FS細胞を組み込んだシナプス結合機能モジュールができることが推定された。



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)

[学会発表] (計 3 件)

① MIEKO Morishima, Yasuo Kawaguchi
Extracortical projection dependent dendritic alignment and synaptic transmission of neocortical pyramidal cells
Neuroscience 2009 2009年10月19日
(Chicago, USA McCormick Place convention center)

② 森島 美絵子、川口泰雄
皮質外投射パターンに依存した錐体細胞のシナプス伝達特性と樹状突起相互配列
第32回日本神経科学大会2009年9月16日
名古屋国際会議場

③ 森島 美絵子、川口泰雄
前頭皮質5層における興奮性及び、抑制性反回結合特性
第31回日本神経科学大会 2008年7月11日
東京国際フォーラム

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高田 美絵子 (森島 美絵子)

(TAKADA MIEKO)

生理学研究所・大脳皮質機能研究系・助教
研究者番号：30435531