

機関番号： 14401
 研究種目： 若手研究 (B)
 研究期間： 2009 ~ 2010
 課題番号： 21700433
 研究課題名 (和文)
 単一傍細胞刺激技術を用いた大脳皮質側方向結合の視覚情報処理における機能解明
 研究課題名 (英文)
 Information transmission of local circuits in the primary visual cortex revealed by
 juxta-cellular single-cell stimulation
 研究代表者
 田中 宏喜 (TANAKA HIROKI)
 大阪大学・臨床医工学融合研究教育センター・特任准教授(常勤)
 研究者番号： 40335386

研究成果の概要 (和文)

大脳皮質の局所神経結合を詳細に記述することは、大脳皮質の情報処理様式を理解するうえで重要である。今回われわれは単一細胞に電気刺激を施し、それにより生じた細胞活動が、周囲の細胞のスパイク活動にどのような影響が生じたかを測定する手法を確立し、これをネコ大脳皮質第一次視覚野に適用する研究を行った。数 nA の傍細胞刺激で単一細胞を長時間電気刺激しながらその細胞活動を記録し、同時に周囲の多数の細胞の活動を多点アレイ記録電極で記録することに成功した。興奮性細胞を電気刺激して誘発したスパイクが、周囲の細胞のスパイク発火を生じさせる確率を見積もったところ、平均で 2% 程度であった。また、この確率は刺激細胞と、周囲細胞の受容野特性が似ているほど高いことがわかった。さらに抑制性細胞を電気刺激して誘発したスパイクが周囲の細胞のスパイク発火をキャンセル確率も同程度であったが、この確率の大きさは、電気刺激した抑制性細胞と周囲細胞の受容野特性の類似性には依存していなかった。

研究成果の概要 (英文) :

Detailed description of local neural circuits in the cerebral cortex is important for understanding how visual cortices work. Here, we established a method to stimulate single cortical neuron and analyze how inputs from the neuron affect spiking activities of nearby neurons. Using juxtacellular recording and current stimulation with single glass electrodes we evoked and recorded spikes from single cells (juxta-cells) in the cat visual cortex (area 17). Simultaneously we recorded activities of neighboring cells (nearby-cells) using silicon multi-site electrodes. Current (0.5~3nA) was repetitively applied (0.5 sec ON and 0.5 sec OFF) while blank screen or sinusoidal gratings of various orientations were presented to the eyes. Single cells in the cortex alone can increase or decrease firing rate of nearby cells. The efficacy rate mostly distributes in the range of +/-0.2. For excitatory connection, the efficacy increases linearly (response map) with tuning similarities of pre-neurons (juxta-cells) and post neurons (nearby cells), whereas the efficacy for inhibitory connection does not depend on the tuning similarities.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,700,000	510,000	2,210,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：神経科学・神経筋肉生理学

キーワード：大脳皮質、局所回路、神経結合、傍細胞電気刺激、第一次視覚野、視覚

1. 研究開始当初の背景

大脳皮質では、近傍の細胞同士は密接に結合している。これらの神経結合の機能的役割を理解することは、大脳皮質神経回路の動作様式を知る上で重要と考えられるが、現在不明な点が多い。例えば、スライス標本を用いた実験により、単一細胞からのシナプス入力、近傍の細胞に最大2mV程度のEPSPを生じさせることが知られているが (Mason et al. 1991)、in vivo において、このような単一細胞入力は、周囲の細胞のスパイク活動にどのような影響を及ぼすのかわかっていない。また、どのような機能的役割をもつ細胞(視覚の場合であれば、どのような受容野特性をもつ細胞)が、どのような特性をもつ細胞に影響を及ぼすのかもよくわかっていない。

現在、神経結合を調べる主要な手法である相互相関解析(Cross correlation analysis)は、共通入力成分や同期入力成分のために2細胞間の神経結合強度が厳密にはわからないという問題がある (Perkel, 1967)。そこで、本研究では単一細胞を傍細胞電気刺激して (Pinault, 1996)、これにより誘発したスパイク活動を計測し、その活動が周囲の細胞の活動にどのような影響を与えるかを調べるという手法を用いることにした。

2. 研究の目的

本研究の目的は、in vivo 大脳皮質において単一細胞からの入力が周囲の細胞活動にどのように影響を及ぼすのかを知ることである。このために、多点神経活動記録法と傍細胞技術(単一細胞刺激、単一細胞活動記録、図1参照)を融合した手法を用いた研究を行った。細胞の受容野特性はあらかじめ調べておいた。

3. 研究の方法

麻酔不動化したネコ大脳皮質第一次視覚野(17野)にガラス電極を刺入し、電極をターゲットとする細胞の細胞体に十分近接させた状態で nA オーダーで通電して、その細胞を選択的に興奮させる (Pinault, 1996, Howling, 2008)。ガラス電極の近傍に32点から記録できる多チャンネル電極(4本シャフト、1つのシャフトに8つの記録点、NeuroNexus, a4x8-200-400-177)を刺しておき、通電(500ms ON - 500ms OFFの繰り返しを600回程度)により生じた単一細胞の活動

が周囲の細胞にどのような影響を及ぼすのかを調べた(図1参照)。多点電極からは同時に20以上の細胞から記録とることができた。

これらの細胞の受容野特性は以下のようにしてあらかじめ調べておいた。様々な方位、空間周波数、位相からなるサイン波グレイティング刺激をネコの眼の前においたディスプレイ上に呈示し、このときの細胞の応答を計測した。傍細胞刺激を行う細胞については、刺激に用いるガラス電極から、スパイク応答が計測できるので、刺激細胞の受容野特性も知ることができる。方位、空間周波数以外に、細胞の受容野位置や、両眼特性なども調べておいた。

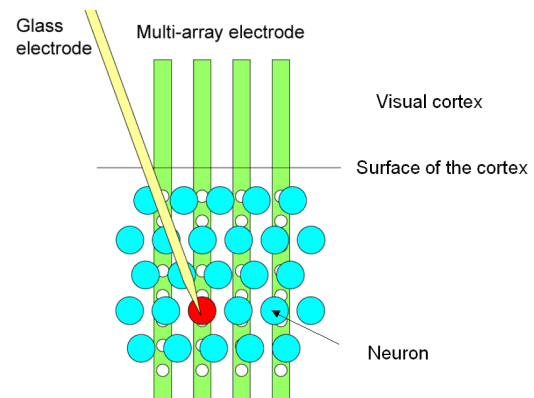


図1. 電極の配置図。ガラス電極(黄色)の先端をターゲットとなる細胞(赤)の細胞体に近づけ nA オーダーの微弱な電流で通電するとその細胞だけを選択的に興奮させることができる。このときその周囲の細胞(青)の活動を多点電極(緑)から記録した。

4. 研究成果

麻酔不動化したネコの V1 野に刺激電極および多点記録電極を配置した。図2に、傍細胞刺激で単一細胞を刺激しているときのスパイク活動を示す。上の図の赤のトレースが電流波形。縦線が電気刺激した細胞の活動電位を表す。ただし電流の ON-OFF 時にみられる長い線は電気刺激による artifact である。電流刺激中に活動電位の発火頻度が上昇していることがわかる。下の図に示すように刺激 OFF 時の平均発火頻度はほとんど0であるのにたいし、刺激 ON 時の平均発火頻度は15発程度であった。

このように傍細胞通電で細胞の活動をコントロールすることに成功した。

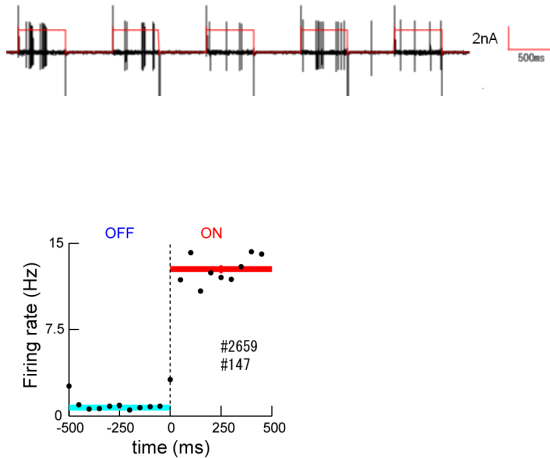


図2. 傍細胞刺激された細胞のスパイク活動. (上) ある試行のスパイク活動. (下) 600 試行の平均発火頻度.

ある細胞を傍細胞電気刺激することで、周囲の細胞を興奮させることができた。図3は、そのような結果がえら得たときの刺激細胞と近傍細胞の方位、空間周波数マップである。2つの細胞はもっとも感受性の高い方位は少し異なるものの、ともに方位-10度から30度の範囲に感受性をもっており、空間周波数に関しても同じ範囲に感受性をもっていた。刺激細胞を傍細胞刺激する前および刺激期間中の近傍細胞の発火頻度の時間変化を調べたところ、電気刺激のない期間に比べて、電気刺激を行っている期間において発火頻度が約1 spike/s程度高かった。これは電気刺激で誘発した細胞のスパイクのうち約10%が近傍細胞に伝達されたことに相当する。この結果は、単一細胞からのシナプス入力のうちかなりの割合が、受容野特性の似た近傍細胞のスパイク活動に影響を及ぼしたことを示している。

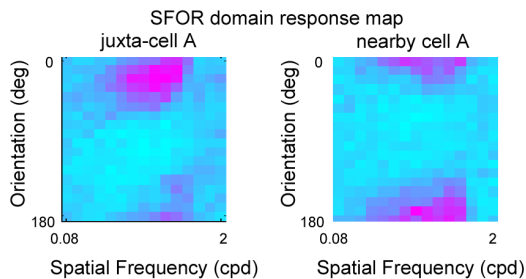


図3. 興奮性の影響がみられた細胞ペアの例. 左が刺激細胞、右が金近傍細胞の方位空間周波数チューニングマップ.

抑制性的の影響がみられた例もあった (図4)。左の細胞を電気刺激して活動させているとき、右の近傍細胞は発火頻度が0.5 spikes/s程度低下した。これは、刺激細胞のスパイクの約3%が、近傍細胞の細胞においてスパイクが生じるのを抑制したことを示している。

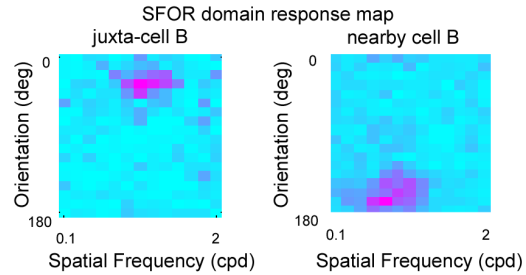


図4. 抑制性的の影響がみられた細胞ペアの例. 左が刺激細胞、右が金近傍細胞の方位空間周波数チューニングマップ.

8個の細胞で単一細胞の刺激に成功し、これらの細胞を電気刺激しているときの近傍の合計248個の細胞活動を解析した。図5は興奮性の影響がみられた2回の実験の結果をまとめたものであり、図6は抑制性的の影響がみられた3回の実験結果をまとめたものである。刺激細胞を電気刺激している期間の近傍細胞の発火頻度を縦軸に、横軸には電気刺激を行っていない期間の発火頻度を示している。いずれの場合も、ほとんどの細胞のデータは対角線上にのっていることから、単一細胞の周辺細胞への影響は非常に小さいと考えられる。しかしながら図5では、電気刺激期間中の細胞活動のほうが統計学的に有意に高く、図6では有意に低かった。このように単一細胞刺激による周囲の細胞集団の活動に有意な影響を及ぼしうることがわかった。この影響をさらに定量化するために、電気刺激した細胞のスパイク数の何%が、近傍細胞のスパイク活動に影響を及ぼしたのかを efficacy という指標で見積もったところ、興奮性に関しては平均約2%、抑制性に関しては平均約0.6%という結果になった。

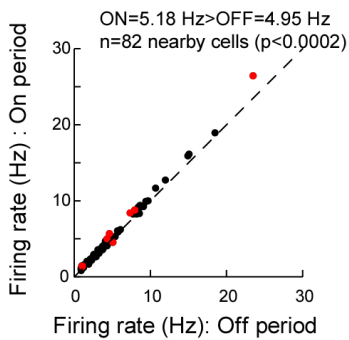


図 5. 興奮性の効果がみられた実験のまとめ。縦軸は、傍細胞刺激中の周囲細胞 (n=82) の発火頻度、横軸は刺激 OFF 時の周囲細胞の発火頻度

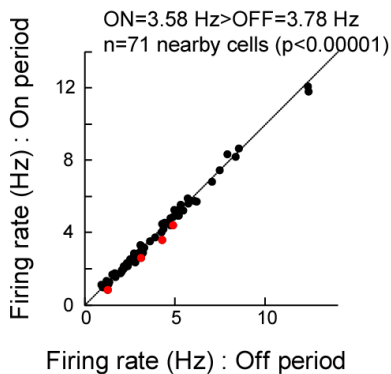


図 6. 抑制性の効果がみられた実験のまとめ

さらに、どのような受容野特性をもつ細胞同士で興奮、抑制の影響がみられるのかを解析した。その結果、刺激細胞と周囲細胞の受容野特性の類似度(signal correlation という指標で定量した)には正の相関がみられた。受容野特性が似ている場合 (signal correlation > 0.2) には、efficacy が正の値をとるものが多く、受容野特性が似ていない場合(signal correlation < 0.2)場合には、efficacy は正負の両方の値をとるものがみられた。類似度を一定の幅で区切り、その区間の efficacy の平均値をプロットすると受容野特性最も類似しているグループ(signal correlatin > 0.6)では約3%の興奮性の影響がみられた。以上の結果は、受容野特性が似ている細胞同士では、主に興奮性の影響がみられ、その主として、プレ側の細胞の約3%のスパイクがポスト側に伝達されるのにたいし、受容野特性が似ていない場合は興奮性の影響も、抑制性の影響も両方みられることがわかった。

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)

[雑誌論文] (計 0 件)
ただし現在執筆中である。

[学会発表] (計 2 件)

1. Tanaka H., Asada Y, Mizoguchi R, Ohzawa H, Fujita I, and Tamura H. Inputs from single neurons in the visual cortex affect spike-timing of locally connected neurons but do not modulate their firing rate and sensory tuning curves (Poster 277) Soc Neurosci 2010 SanDiego (2010/11/15)

2. Tanaka, H., Asada Y., Mizoguchi, R., Ohzawa I., Fujita, I. and Tamura, H. Inputs from single neurons in the visual cortex affect spike timing of locally connected neurons that do not modulate their firing rate and sensory tuning curve. (Poster) 日本神経科学学会 2010, 9, 2 (神戸)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田中 宏喜 (TANAKA HIROKI)
大阪大学・臨床医工学融合研究教育センター・特任准教授 (常勤)
研究者番号 : 40335386

(2) 研究分担者

()

研究者番号 :

(3) 連携研究者

()

研究者番号 :