

平成 23 年 5 月 29 日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009～2011

課題番号：21791811

研究課題名 (和文) 全動物パッチクランプ記録法による島皮質特性とネットワークの解析

研究課題名 (英文) Whole cell *in vivo* patch clamp analysis of Characteristic feature and network function of insular cortex.

研究代表者

安達 一典 (ADACHI KAZUNORI)

明海大学・歯学部・講師

研究者番号：20349963

研究成果の概要 (和文)：全身麻酔下ラットの島皮質 GI (granular)ならびに DI (dysgranular) の II/III 層錐体細胞の自発的神経活動と刺激応答性をパッチクランプ法にて記録し、解析を行った。また、記録と同時に神経細胞に標識色素を流し込み、単一の記録細胞の樹状突起展開、軸索投射ならびに細胞体形態の解析を行った。

研究成果の概要 (英文)：The spontaneous activity and stimulation induced membrane potential of rat's layer II/III pyramidal neurons in GI (granular) and DI (dysgranular) insular cortex were examined by *in vivo* patch clamp whole-cell system. The recorded cells were labeled by biocytin to reconstruct the dendritic tree and axonal projections.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
21 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
22 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,500,000	750,000	3,250,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：機能系歯科基礎系

キーワード：神経科学、*in vivo*、patch clamp、insular cortex

1. 研究開始当初の背景

(1) 一次味覚野の島皮質は、明確な 6 層構造を持たない不全あるいは無顆粒皮質であり、典型的な一次体性感覚野とは異なる解剖学的特徴を持つ。

(2) 島皮質は、扁桃体や視床下部を含む辺縁系から多くの入力を受けており、機能発現には情動系の関与が推察される。

2. 研究の目的

前述の背景を踏まえ、感覚入力を視床中継核から受けると同時に情動系の入力を受けるといふ、極めて特殊な一次感覚野である島皮質の情報処理機構の全容を明らかにするために、本研究では全動物を用いた *in vivo* patch clamp whole-cell 記録法によって、島皮質神経細胞自体の電気生理学的、神経薬理的ならびに神経解剖学的特性の解析と、島皮質神経細胞の機能に及ぼす視床、扁桃体か

らの入力を検討することを目的とした。

3. 研究の方法

全身麻酔(urethane:1.5 g/kg, i.p.)下 4~5 週齢 SD 系雄性ラットに心電図、呼吸数記録用の各電極を刺入、頭部を脳定位固定装置に固定した。ラット頭皮を剥離し脳波測定用金属ねじを Cz-P3/P4 相当部に植立した。側頭骨を露出し bregma から前方 0-2 mm、腹側 5-7 mm を中心とした部位の頭蓋骨に直径約 1.5 mm の開窓術を行い、硬軟膜を除去した。ラット体温は $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ に維持し循環状態を良好に保った。ICMS 用ガラスコーティングタングステン電極を開窓部皮質表面から約 500 μm まで刺入し、約 1 mm 離れた部位に biocytin 20 mM 添加記録用内液を封入した記録用ガラスキャピラリーを刺入し、II/III 層錐体細胞からホールセル記録を行った。神経細胞の静止膜電位を含む自発活動性の記録に続き、電流(current clamp mode)・電圧(voltage clamp mode)の段階的印加(300 ms)ならびに ICMS 法($\pm 1-8 \text{ V}$ 、200 μs 、30 ms 間隔 5 回、20-200 μA 、200 $\mu\text{s} \times 12$ 、333Hz)で誘発される膜活動性を記録しオフライン解析を行った。実験終了後、ICMS 部位の電気破壊(10 μA 、5 s)を行い、深麻酔下でラットを灌流固定し、脳組織の連続切片(70 μm)を作成した。通法に従い biocytin 染色を行った後、皮質の層構造、記録細胞の部位(GI, DI)特定のため 1% neutral red にて対比染色を行い、標識細胞の解剖学的特長として細胞体の形態、大きさ、樹状突起ならびに軸索投射の方向と展開について検討を行った。

4. 研究成果

錐体細胞静止膜電位の自発的振動を示し(図 1、2)、down-state では $-75.4 \pm 2.0 \text{ mV}$ 、up-state では $-51.8 \pm 1.9 \text{ mV}$ の分布を示した(図 3)。

図 1

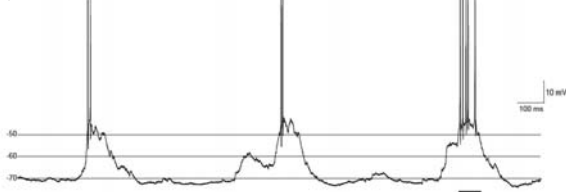


図 2

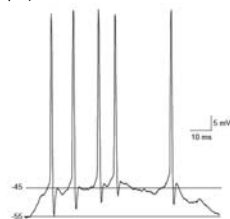
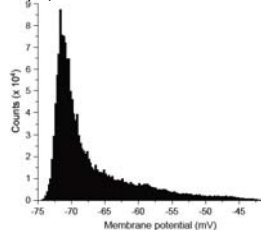


図 3



ICMS 誘発 eEPSP は、 $3.4 \pm 0.8 \text{ mV}$ (図 4、5)を示し、反復刺激に対する paired-pulse ratio は ~ 2 であった(図 6)。

図 4

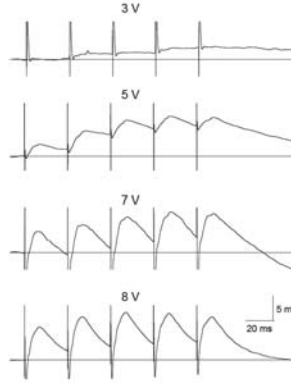


図 5

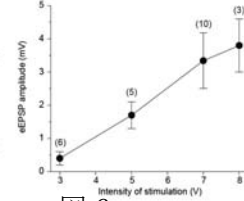
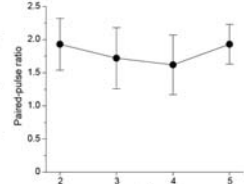


図 6



記録細胞は、基底ならびに先端樹状突起を持ち、その展開はそれぞれ細胞体を中心に 100-300 μm と 300-700 μm に及んだ。軸索投射は細胞体から吻尾側方向への投射(1000-4000 μm)が背腹側方向(1000-2000 μm)よりも遠方に投射しており、なおかつ吻側方向の投射が尾側方向の投射よりも優位である事が明らかとなった。

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)

[学会発表] (計 2 件)

- ① Kazunori Adachi, Satoshi Fujita, Hiroshi Sakagami, Noriaki Koshikawa, Masayuki Kobayashi: PHYSIOLOGICAL FEATURES OF PYRAMIDAL CELLS IN RAT INSULAR CORTEX REVEALED BY IN VIVO WHOLE-CELL PATCH CLAMP RECORDING. 2009, The 36th Congress of the International Union of Physiological Science (IUPS 2009).
- ② 安達 一典、小林 真之、坂上 宏、吉田 篤、越川 憲明: 島皮質錐体細胞の特性とネットワークの全動物パッチクランプ記録法による解析, 第 4 回三叉神経領域の感覚-運動統合機構研究会

[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

6. 研究組織
(1) 研究代表者
安達 一典 (ADACHI KAZUNORI)

研究者番号：20349963

(2) 研究分担者
()

研究者番号：

(3) 連携研究者
()

研究者番号：

