

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 31 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22300113

研究課題名（和文） 運動皮質の神経回路：回路網解析から理論構築へ向けて

研究課題名（英文） Local circuit of a motor areas: For network analysis to theoretical modeling

研究代表者

金子 武嗣 (KANEKO TAKESHI)

京都大学・医学研究科・教授

研究者番号：90177519

研究成果の概要（和文）：本研究では、トランスジェニック動物・ウイルスベクターなどの遺伝子工学と細胞内電極・ホールセルクランプ法などの細胞内染色の技術を組み合わせて、運動関連大脳皮質の神経回路を主として形態学的に解析した。その結果を総合して、大脳皮質には「視床 → 4層 → 2/3層 → 5層 → 皮質下出力」または「視床 → 4層 → 2/3層 → 他の皮質領域」と進むフィードフォワード情報処理系回路と「視床 → 4層 → 6層 → 視床」と反響神経回路を形成する力学系回路が一部重なり合って埋め込まれていることを提案した。とくに運動系皮質では、上記の情報処理系が小脳情報を処理するのに加えて、基底核由来の IZ, VM を介した 1 層への視床皮質入力が錐体細胞の尖状樹状突起に入力して運動の準備などに役立っているのではないかと考えられた。さらに、力学系回路は運動制御に必要とされる自律性を可能にしているのであろうと思われる。

研究成果の概要（英文）：We examined the local circuit of the motor-associated cerebral cortex morphologically by combining the molecular biological technique, such as transgenic animals and viral vectors, with the intracellular labeling method of sharp electrode and whole cell recording. From the experimental results, we propose that partially overlapping two circuits are embedded in the cerebral cortex: 1) thalamic nuclei → layer 4 → layer 2/3 → layer 5 → subcortical output, or thalamic nuclei → layer 4 → layer 2/3 → other cortical areas; 2) thalamic nuclei → layer 4 → layer 6 → thalamic nuclei. The former circuit is likely to be used for the feedforward information processing, and the latter one constitutes a dynamical system which may be associated with the autonomous activity of the corticothalamic loop. In addition to the information processing circuit for the cerebellar inputs in motor-associated areas, the basal ganglia information to layer 1 separately enters the apical dendrites of layer 2/3 and layer 5 pyramidal neurons *via* motor thalamic nuclei (IZ and VM), and probably prepares the cortical activity for motor control. Finally, the dynamical system may be helpful in keeping the autonomous activity that is required for the motor control system.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	6,000,000	1,800,000	7,800,000
2011年度	4,000,000	1,200,000	5,200,000
2012年度	4,000,000	1,200,000	5,200,000
総計	14,000,000	4,200,000	18,200,000

研究分野：脳神経科学

科研費の分科・細目：神経解剖学（1102A）

キーワード：1) 神経解剖学、2) 運動皮質、3) 神経回路網、4) 遺伝子工学、5) 理論構築

## 1. 研究開始当初の背景

運動・行動発現に関わる神経回路として大脳基底核と小脳を巡る回路が重要であることは良く知られている。どちらの回路も大脳新皮質の多くの領域からの入力を受け、最終的にはもう一度大脳の運動系皮質に情報を戻して、最終的な錐体路等の運動制御出力を形成する。小脳がフィードバック誤差学習に基づいて筋肉骨格系の逆ダイナミクスを学習して運動のフィードフォワード制御をしているのに対して、基底核は強化学習によって状態価値・行動価値を学習して行動選択を行っていると考えられている。

ごく最近我々の研究室では、基底核と小脳に由来して皮質に向かう視床皮質入力について、ウィルスベクターにより単一ニューロンの軸索を完全に標識する手法を用いて、初めて発見した。

## 2. 研究の目的

皮質への入力と皮質内局所回路のデザインの知識を組み合わせ、運動系皮質の作動原理を、さらには基底核・小脳の回路を含めた運動制御の原理を見いだすことを目指して具体的研究目的を下記のように設定した。

1) 視床核を介した小脳および基底核から皮質への入力がどのように情報処理されるのか、運動系皮質の回路網デザインを明らかにすることにより形態学的に解析する。

2) 「自己組織化」によって運動系皮質が学習・獲得しているであろう情報処理原理について、究明された皮質回路のデザインを基に新しい理論を発見・提案し、小脳・基底核を含めた行動制御の原理を探ることを目的とする。

## 3. 研究の方法

(1) 解析ツールとして情報入力部位が可視化された遺伝子改変動物などを開発する。

(2) ウィルスによる単一ニューロン染色法と遺伝子工学を組み合わせ、運動性視床核からの入力を受容する皮質ニューロンを検討する。

(3) 細胞内染色法と遺伝子工学を組み合わせ、運動関連領野内での局所回路を検討する。

(4) 運動系皮質のデザインから皮質で行われている計算理論を提案し、小脳・基底核を含めた行動制御の原理を探る。

## 4. 研究成果

(1) 既に開発済みであった parvalbumin (PV) 産生皮質インターニューロン情報入力部位が可視化された PV/myrGFP-LDLRct BAC transgenic mouse を用いて、PV 産生皮質インターニューロンの樹状突起・細胞体の形態学的特性と細胞体、樹状突起の近位部、遠位部への興奮性および抑制性入力の在り方を検討した。皮質性興奮性入力は樹状突起遠位部を好んで入力し、抑制性局所入力は細胞体・樹状突起近位部を好むことがわかった。さらに、形態学的特性を用いたシミュレーション実験で、抑制性入力は遠位部に入力した場合、興奮性入力に比べて入力効率が悪いことを示し、抑制性入力が細胞体・樹状突起近位部に入力する合目的性を示した。さらに、PV ニューロンへの抑制性入力を PV, somatostatin (SOM), vasoactive intestinal polypeptide (VIP) を産生する抑制性ニューロンのサブグループ毎に検討したところ、PV と SOM 陽性の抑制性入力は主として樹状突起を好んでいたが、VIP 入力は PV ニューロンの細胞体を好んで抑制することが判明した。このことは皮質抑制性神経回路には遺伝子発現特異的に配線された回路が存在し、「VIP ニューロン → PV ニューロン → 錐体細胞」という脱抑制の特異神経回路を形成

していることを意味する。

ER81/myrGFP-LDLRct BAC transgenic mouse を作製し、5層錐体細胞の樹状突起が可視化されたマウスを得、これらの錐体細胞の樹状突起に入力する興奮性および抑制性軸索終末を形態学的に解析した。さらに、大脳皮質の3大抑制性インターニューロンのうち Somatostatin および VIP 産生ニューロンの樹状突起を選択的に可視化するために、VIP/Cre, Somatostatin/Cre IRES knock-in mouse を Gensat/NIH より購入し、このマウスの皮質に樹状突起・細胞体を選択的に可視化するウイルスベクターを感染させて、情報入力部位の完全可視化することに成功した。

(2) Sindbis ウィルスによる単一ニューロン標識法を用いて、運動性視床核 VA-VL と比較するために第2次感覚性視床核の後核 POm について視床皮質投射を検討した。一次感覚性視床核よりは広汎な皮質に投射していたが、運動性視床核よりは狭い範囲に投射しており、VA-VL の広汎な投射特性を確認できた。さらに未検討であった運動性視床核 VM について単一ニューロン標識法で検索し、VA-VL の IZ ニューロンよりもさらに広汎に皮質1層を好んで投射することを認めた。したがって運動系皮質は EZ からの広汎な中間層入力、IZ からの広汎な1層入力、VM からのさらに広範な1層入力の3種類の入力を受けていることになる。この成果は論文にまとめて投稿中である。加えて、高次運動野と考えられる内背側核 MD についても検討をすすめ、こちらは EZ ニューロンと比較して興味ある所見を得つつある。

(3) 抑制性ニューロンから逆行性に標識された皮質脊髄投射ニューロンへの局所力を VGAT/Venus BAC transgenic rat の脳スライスを用いて検討した。当該ラットでは皮質抑制性インターニューロンが蛍光標識されて

おり、ホールセルクランプ法により細胞内染色をして「From one」の5層抑制性ニューロンを選択的に標識した。発火特性と免疫反応を用いて、標識ニューロンを Fast-spiking (FS) ニューロン、SOM ニューロン、non-FS/non-SOM ニューロンの3群に分け、「To group」の皮質脊髄ニューロンへの入力を検討した。その際 FS ニューロンは軸索の密度から2群に分かれたが、双方ともに皮質脊髄ニューロンへの入力の30%が細胞体へのものであった。SOM, non-FS/non-SOM ニューロンは10-15%しか細胞体へ入力していなかった結果とくらべると FS ニューロンは皮質脊髄路ニューロンの細胞体を好んで抑制をかけていることになる。特に軸索密度の高い FS ニューロンが皮質脊髄投射ニューロンの強力な抑制素子であると考えられた。

次に、逆行性に6層皮質視床投射ニューロンの情報入力部位（すなわち樹状突起・細胞体）を可視化できる myrGFP-LDLRct 発現 adenovirus を作製し、局所錐体細胞から (from one) の皮質視床ニューロンへ (to group) の入力を形態学的に検討した。その結果、皮質視床ニューロンに各層からの入力が認められたが、5層錐体ニューロンおよび6層皮質皮質ニューロンからは空間的に広い範囲からの入力が多く、4層有棘ニューロンおよび6層皮質視床ニューロンからは狭い範囲からの入力が多いことがわかった。さらに、受け手の皮質視床ニューロンの立場から見ると、一番入力の多いのは直上の4層有棘ニューロンであり、次に多いのは近傍の6層錐体ニューロンであることが判明した。

(4) Infomax の理論の延長線上で、sparse coding の学習原理を用いて、皮質情報処理の原理を探るシミュレーション実験を行った。ここでは Recurrent Infomax 原理を用

いた Recurrent network の研究とは異なり、Feedforward の神経回路を想定して、そこで の階層的情報処理の深化を検討した。例えば、視覚野で 4 層 simple cell から 2/3 層 complex cell へと情報処理が進むことを説明できる皮質学習モデルを構築できた。

#### 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] (10件)

① Kaneko T,

Local connections of excitatory neurons in motor-associated cortical areas of the rat. *Frontier in Neural Circuits*, 査読有, in press, DOI:10.3389/fncir.2013.00075

② Sonomura T, Furuta F, Nakatani I, Yamamoto Y, Unzai T, Matsuda W, Iwai H, Yamanaka A, Uemura M, Kaneko T.

Correlative analysis of immunoreactivity in confocal laser-scanning microscopy and scanning electron microscopy with focused ion beam milling. *Frontiers in Neural Circuits*. 査読有、vol. 7, article 26, February 25, 2013  
DOI:10.3389/fncir.2013.00026

③ Ge S-N, Li Z-H, Tang J, Ma Y, Hioki H, Zhang T, Lu Y-C, Zhang F-X, Mizuno N, Kaneko T, Liu Y-Y, Lung MSY, Gao G-D, Li J-L. Differential expression of VGLUT1 or VGLUT2 in the trigeminothalamic or trigeminocerebellar projection neurons in the rat. 査読有, *Brain Structure and Function*, in press, 2013  
DOI 10.1007/s00429-012-0495-1

④ Koshimizu Y, Fujiyama F, Nakamura KC, Furuta T, Kaneko T. A quantitative analysis of axon bouton distribution of subthalamic nucleus neurons in the rat by single neuron visualization with a viral vector. *The Journal of Comparative Neurology*, 査読有、vol. 521(no. 9), pp. 2125-2146, June 15, 2013, DOI 10.1002/cne.23277

⑤ Hioki H, Okamoto S, Konno M, Kameda H, Sohn J, Kuramoto E, Fujiyama F, Kaneko T. Cell type-specific inhibitory inputs to dendritic and somatic compartments of parvalbumin-expressing neocortical interneuron. *The Journal of Neuroscience*, 査読有、vol. 33 (no. 2), pp. 544-555, January 9, 2013,  
DOI:10.1523/JNEUROSCI.2255-12.2013

⑥ Tanaka T, Aoyagi T, Kaneko T. Replicating receptive fields of simple and complex cells in primary visual cortex in a neuronal network model with temporal and population sparseness and reliability. *Neural Computation*, 査読有、vol. 24 (no. 10) pp. 2700-2725, October, 2012  
DOI: 10.1162/NECO\_a\_00341.

⑦ Li Zhihong, Ge Shunnan, Zhang Fuxing, Zhang Ting, Mizuno N, Hioki H, Kaneko T, Gao Guodong, Li Jinlian. Distribution of gephyrin-immunoreactivity in the trigeminal motor nucleus: An immunohistochemical study in the rat. *Anatomical Record*, 査読有、vol. 295 (no. 4), pp. 641-651, 2012.  
DOI:10.1002/ar.22426

⑧ Kameda H, Hioki H, Tanaka YH, Tanaka T, Sohn J, Sonomura T, Furuta T, Fujiyama F, Kaneko T. Parvalbuminproducing cortical Interneurons receive inhibitory inputs on Proximal portions and cortical excitatory inputs on distal dendrites. *European Journal of Neuroscience*, 査読有、vol. 35 (no. 6), pp. 834-854, March, 2012.  
DOI:10.1111/j.1460-9568.2012.08027.x

⑨ Ohno S, Kuramoto E, Furuta T, Hioki H, Tanaka YR, Fujiyama F, Sonomura T, Uemura M, Sugiyama K, Kaneko T. Morphological analysis of thalamocortical axon fibers of rat posterior thalamic nuclei: A single neuron tracing study with viral vectors. *Cerebral Cortex*, 査読有 vol. 22, pp. 2840-2857, December, 2012  
DOI:10.1093/cercor/bhr356

⑩ Tanaka YR, Tanaka YH, Konno M, Fujiyama F, Sonomura T, Okamoto-Furuta K, Kameda H, Hioki H, Furuta T, Nakamura KC, Kaneko T. Local connections of excitatory neurons to corticothalamic neurons in the rat barrel cortex. *Journal of Neuroscience*, 査読有、vol. 31 (no. 50), pp. 18223-28236, Dec 14, 2011.  
DOI:10.1523/JNEUROSCI.3139-11.2011

[学会発表] (計10件)

① 倉本恵梨子, 藩世秀, 大野幸, 田中康裕、雲財知, 古田貴寛, 日置寛之, 中村公一、藤山文乃, 金子武嗣.  
運動系視床皮質投射の神経回路.  
第118回 日本解剖学会・全国学術集会

2013年3月28~30日、高松

② 日置寛之, 王濤, 孫在隣, 岡本慎一郎, 亀田浩司, 倉本恵梨子, 藤山文乃, 金子武嗣. Excitatory and Inhibitory Inputs to Parvalbumin-Expressing Interneurons in the Mouse Primary Motor Cortex.  
第118回 日本解剖学会・全国学術集会  
2013年3月28~30日、高松

③ 平井大地, 古田貴寛, 金子武嗣.  
Sensory representation of corticothalamic projection neurons in layer VI in the vibrissa barrel cortex of waking rats.  
第118回 日本解剖学会・全国学術集会  
2013年3月28~30日、高松

④ 早川隆, 青柳富誌雄, 金子武嗣.  
リカレント結合ニューロン系の確率ダイナミクスにおいて局所的学習を可能にする条件について。  
日本物理学会 第68回年次大会  
2013年3月26-29日、広島大学

⑤ Yoshiko Nakamura, Hiroyuki Hioki, Naoya Kataoka, Takeshi Kaneko, Kazuhiro Nakamura; Optogenetic stimulation of neurons in the preoptic area inhibits metabolic heat production.  
第90回日本生理学会大会 2013年3月27日  
横浜市立大学

⑥ Hioki H, Okamoto S, Konno M, Kameda H, Sohn J, Kuramoto E, Fujiyama F, T. Kaneko T. Cell type-specific inhibitory inputs to dendritic and somatic compartments of parvalbumin-expressing neocortical interneuron. The 42nd Society for

Neuroscience Annual Meeting, October  
13-17, 2012, New Orleans MI, USA.

⑦ Sohn J, Hioki H, Okamoto S, Kaneko T.  
Preprodynorphin-producing neocortical  
interneurons constitute a subpopulation  
of somatostatin-expressing neurons.  
The 42nd Society for Neuroscience Annual  
Meeting, October 13-17, 2012,  
New Orleans, MI, USA.

⑧ Hayakawa T, Kaneko T, Toshio Aoyagi  
Sparsity conditions for local learning  
algorithms on recurrent neuronal  
networks: Recurrent Infomax as an  
example.

⑨ 中村和弘、片岡直也、日置寛之、金子武  
嗣;視床下部一延髄投射ニューロンの光刺  
激による褐色脂肪熱産生の惹起。  
温熱生理研究会、2012年9月4～5日、  
生理学研究所、岡崎

⑩ 孫在隣、日置寛之、岡本慎一郎、金子武嗣  
大脳皮質ソマトスタチン陽性抑制性細胞の  
一部はプレプロダイノルフィンを産生する  
第35回日本神経科学大会、  
2012年9月18～21日、名古屋国際会議場

[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

<http://www.mbs.med.kyoto-u.ac.jp>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

金子 武嗣 (KANEKO TAKESHI)

京都大学・医学研究科・教授

研究者番号: 90177519