

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24年 5月31日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22700423

研究課題名（和文） 小脳グロビュラー細胞へのシナプス入力の解析

研究課題名（英文） Characterization of synaptic inputs to cerebellar globular cells

研究代表者

廣野 守俊 (HIRONO, MORITOSHI)

独立行政法人理化学研究所・運動学習制御研究チーム・研究員

研究者番号：30318836

研究成果の概要（和文）：

小脳のグロビュラー細胞はルガロ細胞のサブグループとして形態学的に同定されたが、このニューロンの絶対数は少なく、明視野での同定は困難であった。しかし GAD67^{+/GFP} マウス小脳を用いて電気生理学的解析を行ったところ、グロビュラー細胞はプルキンエ細胞から強い抑制性シグナルを受けることが分かった。また興奮性入力も感覚刺激を伝達する苔状線維により仲介される可能性が示唆された。グロビュラー細胞は小脳皮質の入力信号と出力信号を統合する役目があると推測される。

研究成果の概要（英文）：

Cerebellar globular cells, a subgroup of Lugaro cells, have been identified morphologically. By using whole-cell patch-clamp recordings we found that globular cells received prominent IPSCs together with monosynaptic inputs from the axon collaterals of Purkinje cells. Additionally, globular cells likely received excitatory monosynaptic inputs through mossy fibers. Globular cells appear to integrate input and output signals of the cerebellar cortex.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,800,000	840,000	3,640,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：脳神経科学・神経・筋肉生理学

キーワード：小脳・グロビュラー細胞・ルガロ細胞・プルキンエ細胞・抑制性介在ニューロン・苔状線維・セロトニン

1. 研究開始当初の背景

運動学習を担う小脳は、認知や情動機能にも深くかかわることが示唆されている。小脳

顆粒細胞層に存在する抑制性介在ニューロンは専らゴルジ細胞であり、その生理学的役

割は精力的に研究されてきた。一方、顆粒細胞層には他の抑制性介在ニューロンであるルガロ細胞が存在する。このニューロンは115年前にLugaroによって報告されたにもかかわらず、その生理学的特性は数年前まで全く報告されて来なかった。その電気生理学的特性として、普段はサイレントなルガロ細胞はセロトニンによって活動電位を発火して、後シナプスのゴルジ細胞を強く抑制することが挙げられる。また近年、ルガロ細胞のサブグループとしてグロビュラー細胞が形態学的に同定されたが、その生理学的特性は全く分かっていなかった。

2. 研究の目的

本研究ではグロビュラー細胞への興奮性・抑制性シナプス入力を詳細に解析し、グロビュラー細胞の活動電位発火条件を明らかにして、小脳機能におけるその生理学的意義に迫ることを目的とする。

3. 研究の方法

顆粒細胞層での抑制性介在ニューロンの認識を容易にするため、GAD67^{+/GFP} マウス（18–25 日齢）から小脳切片を作成した。ニューロンから電流応答を記録するためにホールセル電位固定法を、記録しているニューロンの形態観察を行うために蛍光色素を注入した。グロビュラー細胞は自発性の抑制性シナプス後電流 (IPSC) の振幅が大きく高頻度であることと、形態学的特徴から同定した。誘発性シナプス後電流を誘導するために刺激電極を使用した。

4. 研究成果

グロビュラー細胞への強い抑制性シナプス入力は主にプルキンエ細胞軸索側枝を介するものと推測される。そこで直接的な証拠を得るためグロビュラー細胞と近傍のプルキンエ細胞にダブルホールセル記録法を適

用した。するといくつかのペアー記録においてプルキンエ細胞へ脱分極刺激を与えると、グロビュラー細胞から誘発性の IPSC を記録することができた (図 1)。

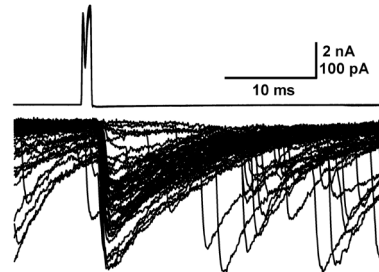


図 1. 小脳プルキンエ細胞への脱分極刺激 (上) によって、グロビュラー細胞に誘発される抑制性シナプス後電流 (下)。

次にグロビュラー細胞から興奮性シナプス後電流 (EPSC) を記録して、平行線維、登上線維、苔状線維のいずれの線維から興奮性入力を受けるのか検証した。グロビュラー細胞から自発性 EPSC を記録すると、低頻度で振幅の小さいことが分かった。刺激電極を分子層から顆粒層へと移動して、誘発性 EPSC を記録したところ顆粒層への刺激によって記録が可能となった。短時間に 2 発刺激を与えると 2 発目の応答が減弱した。これらは苔状線維—ゴルジ細胞間シナプスにおける誘発性 EPSC の性質と似た傾向であることから、グロビュラー細胞は苔状線維から興奮性入力を受ける可能性が示唆された。したがってグロビュラー細胞は小脳皮質への入力信号とプルキンエ細胞が担う出力信号を統合する役目があると推測される。

グロビュラー細胞はルガロ細胞と同様に小脳内外側方向に長い軸索を投射することが形態学的に分かっている。そして他の抑制性介在ニューロンと抑制性のシナプスを形成することが報告されている。つまりグロビ

ユラー細胞の発火は他の抑制性介在ニューロンを抑制し、結果的に多くのプルキンエ細胞の活動を同時に促進する作用があるものと思われる。小脳の機能的モジュールを相互作用させ、多くの筋活動を組み合わせた複雑な動きの達成にかかわるものと推測される。

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1件)

- ① Hirono M, Saitow F, Kudo M, Suzuki H, Yanagawa Y, Yamada M, Nagao S, Konishi S*, Obata K. Cerebellar globular cells receive monoaminergic excitation and monosynaptic inhibition from Purkinje cells. *PLoS ONE* 7 (1), e29663 (2012), 査読有

[学会発表] (計8件)

- ① 廣野守俊、工藤もゑこ、柳川右千夫、小西史朗、永雄総一、小幡邦彦, ”小脳グロビュラー細胞へのGABA作動性シナプス伝達の薬理学的特性”, 第89回日本生理学会大会、2012年3月29日、長野県松本文化会館
- ② Hirono M, Saitow F, Kudo M, Suzuki H, Yanagawa Y, Yamada M, Nagao S, Konishi S, Obata K, “Physiological characteristic of small inhibitory interneurons underneath the cerebellar Purkinje cell layer”, The 4th International symposium of the society for research on the cerebellum, September 18, 2011, Tokyo, Japan
- ③ 廣野守俊、齋藤文仁、工藤もゑこ、鈴木秀典、柳川右千夫、山田真久、永雄総一、小西史朗、小幡邦彦, ”小脳グロビュラー細胞へのシナプス入力の研究”, 第34回日本神経科学大会、2011年9月17日、パシフィコ横浜

- ④ Hirono M, “Cerebellar globular cells receive inhibitory synaptic transmission from Purkinje cells”, OIST international workshop “Molecular & structural organization of presynaptic function and plasticity”, September 7, 2011, Okinawa, Japan

- ⑤ 廣野守俊、齋藤文仁、鈴木秀典、柳川右千夫、山田真久、永雄総一、小西史朗、小幡邦彦, ”モノアミンにより発火する小脳グロビュラー細胞の役割”, 第15回活性化アミンに関するワークショップ、2011年8月11日、徳島文理大学国際会議場

- ⑥ 廣野守俊、齋藤文仁、工藤もゑこ、鈴木秀典、柳川右千夫、山田真久、永雄総一、小西史朗、小幡邦彦, ”小脳グロビュラー細胞へ入力するシナプス伝達の解析”, 第88回日本生理学会大会、2011年3月28日、パシフィコ横浜

- ⑦ 廣野守俊, ”小脳グロビュラー細胞へのシナプス入力の解析”, 生理研研究会「シナプス伝達の概念志向型研究」、2010年12月7日、岡崎

- ⑧ 廣野守俊、齋藤文仁、鈴木秀典、柳川右千夫、山田真久、小西史朗、小幡邦彦, ”小脳プルキンエ細胞から強い抑制を受ける顆粒層小型抑制性介在ニューロンの解析”, 第87回日本生理学会大会、2010年5月19日、盛岡市

[図書] (計1件)

- ① 廣野守俊、”多様なニューロンにより精緻化される小脳神経回路”、[特集]小脳研究の課題、生体の科学 Vol. 62, 292-297 (2011).

[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://mlc.brain.riken.jp/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

廣野 守俊 (HIRONO MORITOSHI)

独立行政法人理化学研究所・運動学習制御研究チーム・研究員

研究者番号：30318836