

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 3 日現在

機関番号：63905

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2011～2012

課題番号：23700478

研究課題名（和文）大脳皮質における抑制性介在細胞ネットワークの錐体細胞による制御機構

研究課題名（英文）Activity control of inhibitory interneuron networks by pyramidal cells

研究代表者

大塚 岳（OTSUKA TAKESHI）

生理学研究所・大脳皮質機能研究系・助教

研究者番号：10390692

研究成果の概要（和文）：

大脳皮質の抑制性介在細胞ネットワークがどのように興奮性の錐体細胞によって制御されているのかを明らかにすることを目標にした。ラットの前頭皮質スライス標本を用いて、主要な介在細胞タイプである fast-spiking (FS) 細胞への結合特異性について第5層で解析した。その結果、FS 細胞間で電気結合がある細胞ペアにおいて錐体細胞からの共通入力確率が高かった。また、FS 細胞の活動は回路の状態に依存して興奮性・抑制性の両方の作用を電気結合を介して FS 細胞に伝搬することがわかった。

研究成果の概要（英文）：

Cortical fast-spiking (FS) interneurons are electrically interconnected through gap junctions and form dendritic net structures extending over different functional columns. Here, I investigated how pyramidal cells regulate FS cell network activity. Using paired recordings and glutamate puff-stimulations, I found that FS cell pairs connected by electrical synapses shared common inputs from surrounding pyramidal cells more frequently than those unconnected or connected only by chemical synapses. Experimental and simulation results suggest that activity spread evoked by common inputs to electrically connected FS cells depends on network state. When cells were in the depolarized state, common inputs to electrically connected cells enhanced spike induction and induced inhibitory effects in surrounding FS cells. By contrast, in the hyperpolarized state, either sub- or supra-threshold inputs produced depolarizing potentials in nearby cells. Our results suggest that globally connected FS cell networks are locally regulated by pyramidal cells in an electrical connection- and network state-dependent manner.

交付決定額

（金額単位：円）

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|-------|-----------|---------|-----------|
| 交付決定額 | 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：大脳皮質、錐体細胞、介在細胞、FS 細胞、ギャップジャンクション

1. 研究開始当初の背景

|

脳の情報処理を理解するには、神経回路を構成する個々の細胞の性質と細胞間の機能的な結合を明らかにする必要がある。研究代表者は、これまでに脳の高次機能を担っている大脳皮質の錐体細胞間の興奮性ネットワークに着目し、錐体細胞の皮質下構造や他の皮質領野への投射先に対応して層内・層間の結合回路がサブネットワークを形成していることを示した。皮質回路は興奮性の錐体細胞と様々なタイプで分類される抑制性介在細胞から構成されており、錐体細胞の活動は抑制性の入力によって強く制御されている。大脳皮質の介在細胞は、細胞タイプに依存して結合を有し、サブネットワークを形成していることも知られている。しかし、介在細胞のサブネットワークがどのように錐体細胞から入力を受け、活動を制御されているのかは明らかにされていない。

2. 研究の目的

脳の高次機能を担う大脳皮質の情報処理を理解するために、皮質回路を構成する細胞間の結合特異性を明らかにすることを目標としている。5層錐体細胞は様々な皮質下構造に投射しており、大脳皮質の皮質下構造への主な情報出力を担っている。研究代表者は、これまでに錐体細胞間の結合が投射する皮質下構造や皮質領野に対応してサブネットワークを形成していることを明らかにした。一方、抑制性介在細胞の結合は細胞タイプ選択的に形成されていることが知られている。そこで、本研究では、抑制性介在細胞間の結合回路は、錐体細胞サブネットワークからどのように入力を受け、制御されているのかを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、ラットの大脳皮質（前頭皮質）スライス標本を用い、5層の抑制性介在細胞からホールセル記録を行った。介在細胞は、膜特性からFast-spiking (FS) 細胞と non-FS 細胞に分類した（図 - 1）。

興奮性の錐体細胞は、逆行性蛍光トレーサーを用いて投射先を同定した。また、記録している細胞にシナプス結合をする細胞を探

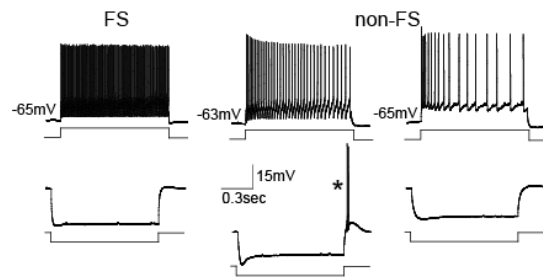


図 - 1. 5層介在細胞の発火特性。

すために、グルタミン酸を先端が細いガラス管を用いて短時間投与した。この方法は、単一または同時記録する複数の細胞へのシナプス前細胞を、簡便に多数の細胞の中から検索することができる利点がある。

4. 研究成果

錐体細胞から介在細胞ネットワークへの結合特異性を検討するために、5層の二つのFS細胞から同時に記録を行いFS細胞間の結合について解析した。その結果、FS細胞間には記録した細胞の細胞体の距離に依存して電気結合をしていた（図 - 2）。

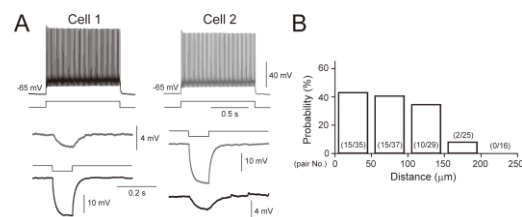


図 - 2. (A) FS細胞間の電気結合。(B)結合確率は細胞間の距離に依存する。

5層錐体細胞から介在細胞へのシナプス入力パターンについて、錐体細胞にグルタミン酸刺激法を用いて発火させることで入力確率を解析した。その結果、FS細胞は non-FS細胞と比べて結合確率が高かった。また、逆行性蛍光トレーサーを用いて対側大脳皮質と同側橋核に投射する錐体細胞をそれぞれ同定し、単一のFS細胞への結合確率について比較した。FS細胞は、錐体細胞の投射先に依存せずシナプス入力を受けることがわかった（図 - 3）。

次に、FS細胞ネットワークへの錐体細胞からの入力パターンについて解析した。二つのFS細胞から同時に記録を行い、錐体細胞へのグ

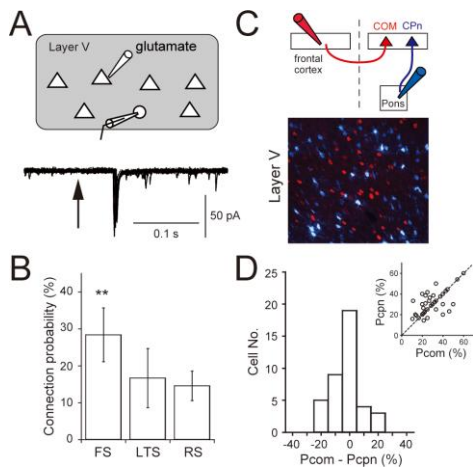


図 - 3. (A, B) 刺激によって誘発された EPSC の結合確率。(C, D) 錐体細胞サブタイプの FS 細胞への入力確率を単一 FS 細胞ごとに比較した。

ルタミン酸刺激によって誘発される同期したシナプス入力の確率（共通入力確率）について FS 細胞ペア間の結合パターンの違いで比較した。その結果、FS 細胞間で電気結合（ギャップジャンクション）がある場合に共通入力確率が高かった（図 - 4）。しかし、電気結合が無い場合、化学結合を有していても共通入力確率は低かった。以上の結果から、錐体細胞は FS 細胞ネットワークを局所的に制御していることが示唆された。

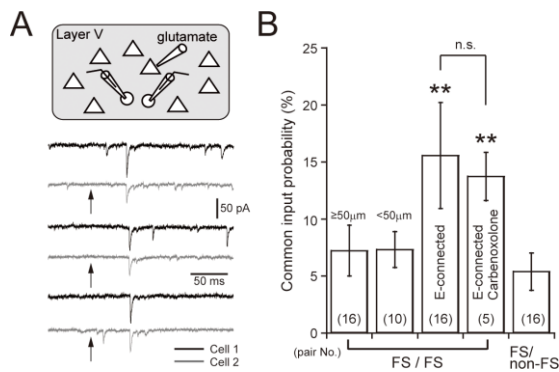


図 - 4. FS 細胞ペアへの共通入力確率。

FS 細胞はギャップジャンクションを介して電氣的に結合することによって、皮質内では樹状突起網を形成している。そこで、錐体細胞からの入力によって誘発された活動がどのように電気結合した周辺の FS 細胞に伝搬されるのかについて検討した。電気結合をした（化学結合は無い）FS 細胞ペアから同時に記録を行い、片方にスパイク活動を電流注

入によって発生させ、ポスト側の細胞に誘発される活動について解析した。大脳皮質の細胞は、睡眠時など脳の状態によって膜電位が過分極、脱分極された状態を示したり、過分極・脱分極を繰り返すことが知られている。そこで、細胞が脱分極された状態と過分極された状態における FS 細胞間の活動の伝搬について解析した。その結果、スパイク活動は膜電位の状態に依存してシナプス後細胞に興奮的にも抑制的にも伝搬した。膜電位が脱分極状態の時は、小さな脱分極電位（スパイクレット）の後に大きな過分極電位が発生した。過分極状態においては、プレシナプス細胞の活動は、ポストシナプス細胞において脱分極電位を発生させた（図 - 5）。

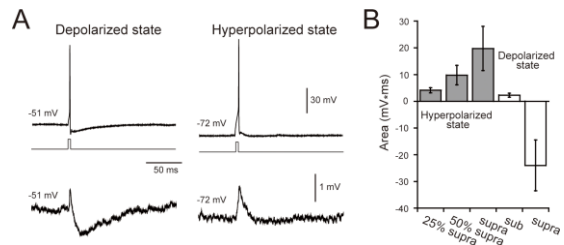


図 - 5. 膜電位状態に依存した FS 細胞間の活動の伝搬。

FS 細胞間の活動の伝搬をさらに理解するために、計算機シミュレーションを行った。FS 細胞モデルはコンパートメントモデルとし、各コンパートメントには FS 細胞のスパイク活動に重要と示されているイオンチャンネル（コンダクタンス）をホジキン - ハクスレイ方程式を用いてモデル化したものを挿入した（図 - 6）。

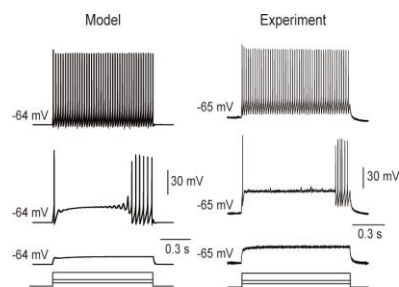


図 - 6. FS 細胞モデルの発火応答。左、FS 細胞モデル。右、実験で記録された FS 細胞の応答。

細胞間の活動の伝搬を検討した結果、モデ

ルにおいても膜電位に依存した活動の伝搬を再現することができた。シミュレーションによって、(1) ポリシナプス細胞には活動の伝搬が非常に減衰して伝わる。(2) プレシナプス細胞の同期した活動はポストシナプス細胞では加算される。(3) FS 細胞間の化学シナプスは高い反転電位を持つことから、脱分極状態では抑制性として、過分極状態では興奮性として作用し電気シナプスと協働的に働くことがわかった (図 - 7)。

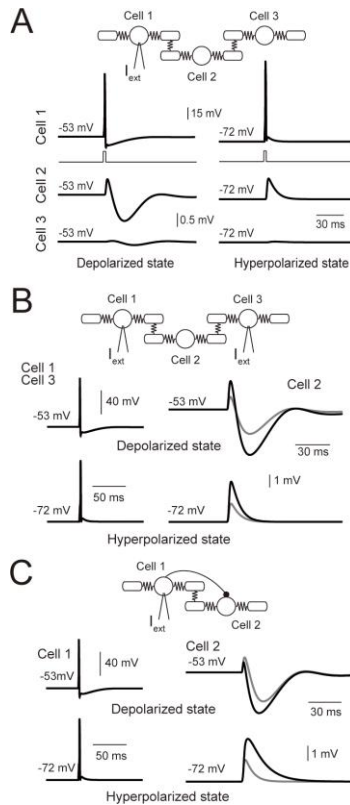


図 - 7. 細胞間の活動の伝搬。

電気結合した FS 細胞ネットワーク (樹状突起網) における活動の伝搬を検討するために、50 個の FS 細胞モデルを用いて実験結果を反映させたネットワークを作りさらに解析した (図 - 8)。

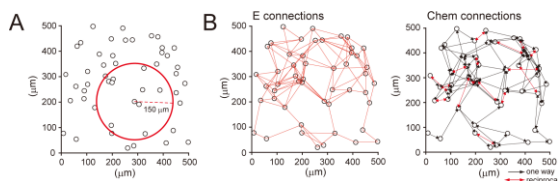


図 - 8. FS 細胞の回路モデル。

錐体細胞は電気結合を有する FS 細胞ペアに共通入力が多く作っていたので、同期した EPSC 様の電流を(1) 電気結合した FS 細胞 (Coupled Inputs)、(2) 電気結合していない FS 細胞 (Decoupled Inputs) の 2 つの条件で与え、FS 細胞ネットワークでの活動の伝搬を比較検討した。回路モデルには、単一で与えた場合にスパイクを誘発する振幅の EPSC とスパイクを誘発しない (閾値下) EPSC をまぜて与えた。Coupled Inputs の場合は、回路が脱分極状態の時は閾値下の電流を受けた細胞も含め同期した入力を受けた細胞すべてにおいてスパイクが発生した。その結果、周辺の FS 細胞の膜電位は過分極され抑制性の作用を示した。一方、Decoupled Inputs の場合は、閾値上の入力を受けた細胞ではスパイクが誘発されたが、閾値下の入力を受けた細胞ではスパイクが発生せず、入力に対応した脱分極電位が発生した。その結果、周辺の FS 細胞には、興奮性・抑制性の両方の作用が見られた (図 - 9)。また、回路が過分極状態において、Coupled Inputs と Decoupled Inputs の両方の場合で、同期した入力に対して周辺の細胞に興奮性の作用をおよぼした。

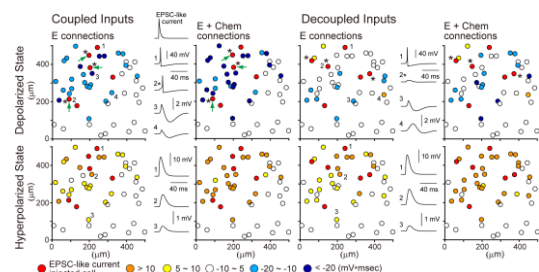


図 - 9. 回路モデルにおける同期した入力に対する応答。入力に対する膜電位変化 (電位エリア) をカラー表示した。

以上の結果から、FS 細胞サブネットワークは、FS 細胞間の電気結合とネットワークの状態 (脱分極・過分極状態) に依存して錐体細胞から選択的に入力を受け、局所的に活動が制御されていることが示唆された。

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)

[雑誌論文] (計3件)

- (1) 大塚岳、川口泰雄、Common excitatory synaptic inputs to electrically connected cortical fast-spiking cell networks. J. Neurophysiol., 査読有, 2013, 印刷中
- (2) 植田禎史、大塚岳、森島美絵子、牛丸美香、川口泰雄、Multiple layer 5 pyramidal cell subtypes relay cortical feedback from secondary to primary motor areas in rats. Cereb. Cortex., 査読有, 2013, 印刷中
- (3) 大塚岳、川口泰雄、Cell diversity and connection specificity between callosal projection neurons in the frontal cortex. J. Neurosci., 査読有, Vol. 31, 2011, 3862-3870

[その他]

ホームページ等

部門ホームページ

<http://www.nips.ac.jp/circuit/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大塚 岳 (OTSUKA TAKESHI)

生理学研究所・大脳皮質機能研究系・助教
研究者番号：10390692

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者