

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 18 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25460285

研究課題名(和文)聴覚同時検出器細胞の樹状突起局所におけるシナプス統合様式の解明

研究課題名(英文)The properties of synaptic integration at the local dendrite of auditory coincidence detector neurons.

研究代表者

山田 玲 (Yamada, Rei)

名古屋大学・医学系研究科・助教

研究者番号：70422970

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は左右の音入力の時差検出を行うトリ層状核(NL)神経細胞において、音の周波数に応じて樹状突起長が異なる事の意義を解明することを目的とする。長い樹状突起を持つ低周波数領域の細胞(LF細胞)を対象に、主にcagedグルタミン酸を用いた解析から興奮性シナプスが樹状突起遠位に集中していることを明らかにした。この部位への入力は細胞体へ伝わる過程で大きく減衰すること、これには局所の脱分極とそれに続くカリウムチャネルの活性化が関与することも分かった。モデルを用いた解析から、LF細胞では入力を樹状突起遠位に集中させることで細胞体に届く電位を効率的に減衰させ、時差検出精度を調節していることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Neurons in nucleus laminaris (NL) of birds are the coincidence detector of binaural inputs and involved in processing of interaural time differences (ITDs). NL neurons with low tuning frequency (LF neurons) have prominently longer dendrites than the other frequency neurons have. However, how the dendrites contribute to the ITD processing is not well understood. In this study, we first analyzed the distribution of glutamate receptors along the dendrites with the focal uncaging of glutamate. We found that large currents were generated at distal dendrites of the LF neurons. As the amplitude of mEPSCs was uniform along the dendrites, the synaptic terminals might be concentrated at the distal dendrites. We recorded the voltage at the soma and found that the synaptic inputs on the distal dendrites were strongly attenuated because of the local depolarization and following activation of K⁺ channels. This attenuation might contribute to the intensity-dependent regulation of ITD processing.

研究分野：神経生理学

キーワード：樹状突起 同時検出 シナプス 音源定位

1. 研究開始当初の背景

蝸牛器官で捉えられた音の情報は活動電位の時系列信号として、蝸牛神経核に始まる脳幹の聴覚神経核群に伝えられる。これらの神経核では時間情報および音圧情報が個別に抽出され、その後、並列した神経回路で処理される。特に音情報の左右差は重要であり、動物は両耳に到達する音の時間差(両耳間時差: ITD)を手がかりの一つとして音源定位を行う。鳥類においては、層状核(NL, Nucleus Laminaris)神経細胞が両側の蝸牛神経核から音の時間情報をコードした興奮性シナプス入力を受け、このシナプス入力の同時検出器として働くことで、ITDを検出する。聴覚情報は蝸牛器官において周波数分解を受け、特徴周波数(CF)ごとに平行処理されるが、NLにおいても細胞がCFごとに整列し、CFごとのITD検出を行う。細胞の形態もCF領域ごとに異なり、樹状突起はCFが低い領域ほど長くなり、低いCF領域の細胞(LF細胞)は他の領域の細胞に比べ7~20倍長い特徴的な樹状突起を持つ(図1)。NL細胞における樹状突起は高い精度のITD検出を実現するために最適化されていると考えられるが、ITD検出において樹状突起の果たす役割は分かっておらず、CFごとに樹状突起の長さが異なることの意味も明らかではない。

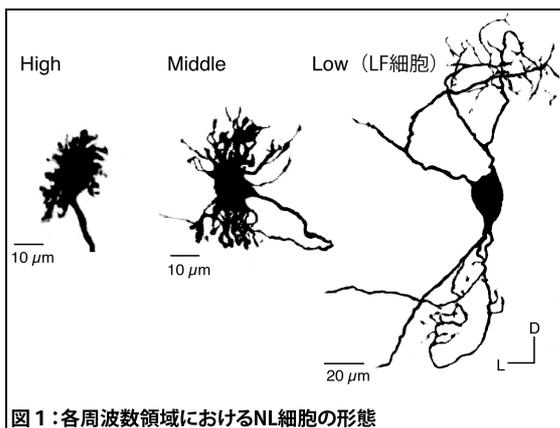


図1:各周波数領域におけるNL細胞の形態

これまでは樹状突起局所へのシナプス入力を選択的に刺激することが困難であったため、樹状突起が同時検出精度にどのように作用するのかについての明確な回答は得られなかった。近年 caged 化合物と2光子レーザー顕微鏡の発展により樹状突起局所へのシ

ナプス入力を再現する事が可能となり、主に大脳皮質や海馬の錐体細胞のような巨大な樹状突起を持つ細胞において実験が行われ、種々の受容体やイオンチャネルと樹状突起の伝達特性の関係が明らかになってきた。この手法をNL細胞に適応できれば、これまで検証できなかった「同時検出精度と樹状突起特性の関係」にアプローチできると考えた。

2. 研究の目的

本研究では特徴的な樹状突起を持つLF細胞に焦点を当て、樹状突起局所へのシナプス入力がどのように細胞体に伝えられ、どのように統合されるのかを詳細に解析する。このことから、ITD検出における樹状突起の役割を明らかにすることを目的とする。さらには周波数ごとにITD検出を行う神経回路において、入力周波数に応じて樹状突起の形態および性質が異なることの生理学的意義を、包括的に理解するための手がかりを得ることを目指す。

3. 研究の方法

ニワトリNLのLF細胞を主な対象に、樹状突起の特性および生理学的役割を電気生理学的・光学的・解剖学的手法を組み合わせることで詳細に解析し、以下の事を明らかにする。

(1) 興奮性シナプス入力の樹状突起における局在。

(2) 樹状突起の伝達特性と入力部位に応じたシナプス統合過程の詳細、およびそれに関わるイオンチャネル等の解析。

さらにシミュレーションを活用する事で細胞全体としての同時検出精度を考察し、処理する音の周波数により樹状突起が異なることの生理学的意義を明らかにすることを目指す。

4. 研究成果

(1) まずLF細胞におけるシナプス入力様式の解析を行った。LF細胞からホールセル記録を行いながら、cagedグルタミン酸を用いた刺激によって樹状突起局所を選択的に刺激し、その時に活性化されるグルタミン酸受容体によるシナプス電流を記録した。その結

果、樹状突起遠位において近位に比べて10倍ほど大きな電流が記録された(図2)。このことは遠位樹状突起でグルタミン酸受容

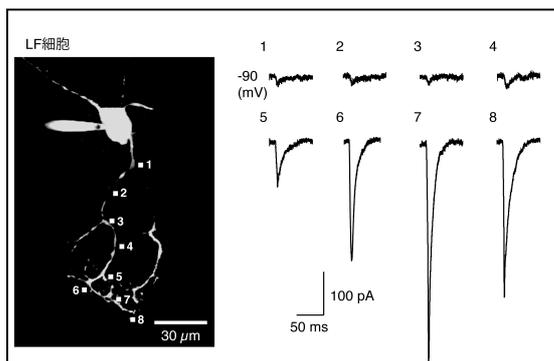


図2：LF細胞樹状突起局所へのcagedグルタミン酸刺激による受容器電流

樹状突起遠位の細く枝分かれした場所に刺激を与えると近位部と比較して約10倍ほど大きな受容器電流が記録される。

体密度が高いことを示唆する。さらに遠位において枝分かれが多いことの影響を除外するため、より照射範囲を局限できる2光子レーザーを用いて同様の実験を行ったところ、やはり樹状突起遠位で大きな電流が記録されたことから、単位長さ当たりの受容体密度が遠位樹状突起において高いことが示された。

(2) スクロース溶液を用いた高浸透圧刺激によって局所で誘発させた微小シナプス電流(mEPSC)を解析したところ、mEPSCの振幅は刺激部位によって違いが無かったことか

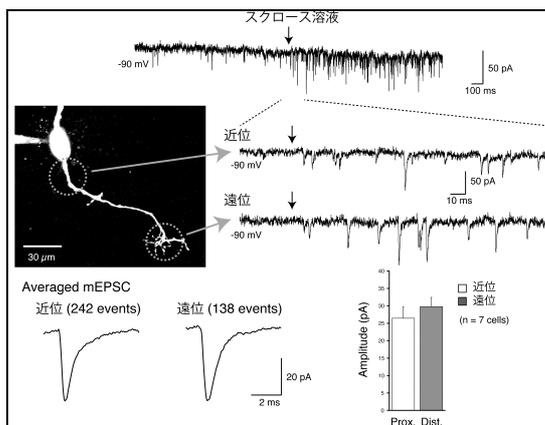


図3：高浸透圧刺激により樹状突起局所で誘発されたmEPSCの振幅の解析

近位樹状突起で誘発されたmEPSCと遠位樹状突起で誘発されたmEPSCの振幅を比較した。mEPSCの振幅は均一であったことから、単一シナプスにおける受容体密度は樹状突起の場所によって変化しないことが示された。

ら、単一シナプスにおける受容体密度は樹状突起上で均一であることが分かった(図3)。つまり(1)で示した樹状突起上での受容体密度の違いはシナプス終末密度の違いを反映しており、NLのLF細胞においては樹状突起遠位にシナプス入力が集まっていることが明らかになった。

(3) 次にcagedグルタミン酸を用いた局所刺激により惹起されたシナプス入力細胞体に電位としてどのように届くのかを解析した(図4)。その結果、遠位への入力は細胞体へ伝わる過程で時間経過を変えずに大きく減衰して届くことが分かった。さらに阻害剤を用いた実験から、この減衰過程には樹状突起局所での脱分極とそれに続くカリウムチャネルの活性化が関与していることも明らかとなった。

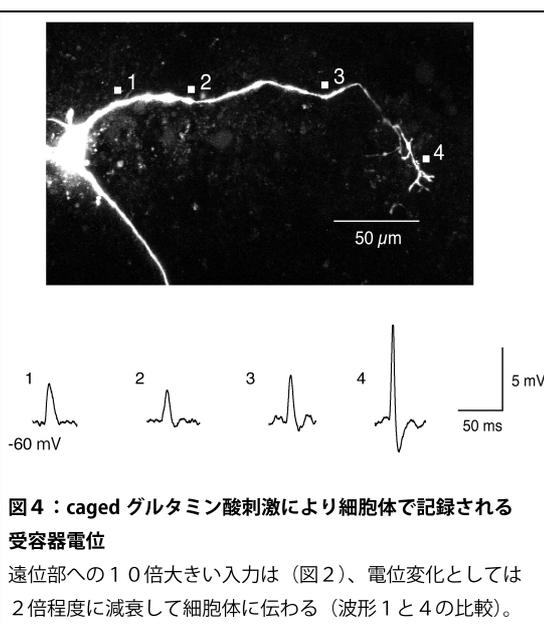


図4：cagedグルタミン酸刺激により細胞体で記録される受容器電位

遠位部への10倍大きい入力(図2)、電位変化としては2倍程度に減衰して細胞体へ伝わる(波形1と4の比較)。

(4) コンピューターシミュレーションを用いて検討したところ、NLのLF細胞ではシナプス入力を樹状突起遠位に集中させることで局所の大きな脱分極を誘発し、細胞体に届く電位を効率的に減衰させていることが分かった。このような構造的特性によりシナプス電位が入力強度依存的に調節されることで、様々な入力強度に対して同時検出精度を維持できるのではないかと考えられた。

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)

[学会発表] (計 12 件)

①山田 玲

聴覚同時検出における非線形シナプス統合の役割

第 94 回日本生理学会大会

2017 年 3 月 28 日

アクトシティ浜松 (静岡県浜松市)

②山田 玲、久場博司

トリ聴覚同時検出器細胞の樹状突起におけるシナプス統合特性

第 39 回日本神経科学大会

2016 年 7 月 22 日

パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市)

③山田 玲、久場博司

トリ聴覚同時検出器細胞における特徴的なシナプス分布とその生理学的意義

第 93 回日本生理学会大会

2016 年 3 月 22 日

札幌コンベンションセンター (北海道札幌市)

④山田 玲、久場博司

トリ聴覚同時検出器細胞の樹状突起における興奮性シナプス入力の特徴的な分布

第 38 回日本神経科学大会

2015 年 7 月 29 日

神戸コンベンションセンター (兵庫県神戸市)

⑤Rei Yamada, Hiroshi Kuba

Functional distribution of excitatory synapses along dendrites of auditory coincidence detector neurons.

The 18th iCeMS International Symposium

2015 年 3 月 2 日

京都大学 (京都府京都市)

⑥山田 玲、久場博司

トリ聴覚同時検出器細胞において入力周波

数依存的に特殊化された樹状突起の統合様式

第 37 回日本神経科学大会

2014 年 9 月 13 日

パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市)

⑦山田 玲、大森治紀、久場博司

トリ聴覚同時検出器細胞の樹状突起における入力周波数に依存した興奮性シナプスの統合様式

第 91 回日本生理学会大会

2014 年 3 月 16 日

鹿児島大学 (鹿児島県鹿児島市)

⑧Rei Yamada, Hiroko Okuda, Eri Nishino, Hiroshi Kuba, Takahiro M. Ishii, Harunori Ohmori

The cooperation of sustained and phasic inhibitions regulates the sensitivity to interaural time difference cue in the nucleus laminaris of birds.

37th International Congress of Physiological Sciences (IUPS2013)

2013 年 7 月 22 日

Birmingham (UK)

[その他]

ホームページ等

https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_J/laboratory/basic-med/cell-science/physiol1/

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山田 玲 (YAMADA REI) ・名古屋大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号 : 70422970

(2) 研究分担者

なし