

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 20 日現在

機関番号：63905

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26640019

研究課題名(和文) 視覚野の機能コラムに構築された微小神経回路の機能

研究課題名(英文) Relationship between functional columns and fine-scale networks in the visual cortex

研究代表者

吉村 由美子 (YOSHIMURA, Yumiko)

生理学研究所・生体情報研究系・教授

研究者番号：10291907

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：視覚機能が発達した哺乳類の一次視覚野には機能コラムが存在する。本研究では、機能コラム内に特異的神経結合による微小神経回路網が存在するかを明らかにする目的で、ネコ視覚野の神経回路を解析した。in vivo光学測定法により方位コラムを同定・標識し、その個体から作製した視覚野切片標本においてコラム内の2/3層錐体細胞ペアからの同時ホールセル記録と光刺激法を組み合わせて微小神経回路網を同定した。その結果、コラム内にある錐体細胞ペアが神経結合している場合、結合がないペアに比して、他の興奮性細胞から高い割合で共通入力を受けていた。この結果は視覚野コラム内に微小神経回路網が埋め込まれていることを示唆する。

研究成果の概要(英文)：In mammals with higher visual functions, functional columns exist in the primary visual cortex. This study was conducted to investigate whether fine-scale networks of precisely interconnected excitatory neurons are included within a functional column in cat visual cortex. To this end, orientation columns in the visual cortex were mapped using in vivo intrinsic optical imaging. Thereafter, we analyzed the fine-scale networks in slices prepared from the imaged visual cortex, using photostimulation of cortical neurons with glutamate uncaging and dual whole-cell recordings from layer 2/3 pyramidal cells within the same orientation column. We found that pyramidal cell pairs shared many common inputs from adjacent excitatory neurons, when they were synaptically connected. Unconnected cell pairs received common inputs far less frequently, compared to connected cell pairs. These results suggest that fine-scale networks are embedded within the same functional column.

研究分野：大脳皮質神経回路

キーワード：大脳皮質視覚野 方位選択性コラム 神経回路

1. 研究開始当初の背景

ヒトやサル、ネコ等の高い視覚機能を持つ動物の一次視覚野では、類似した視覚反応選択性を持つニューロンが集まって機能コラムを形成していることが古くから知られている。しかし、機能コラムの中の神経回路構成については不明な点が多い。これまでに私は、ラット視覚野切片標本を用いて、2個の細胞からの同時ホールセル記録法にケージドグルタミン酸とレーザー光による局所刺激法を組み合わせ、視覚野の神経回路を解析した。その結果、近接する2/3層錐体細胞(興奮性細胞)はその間に興奮性シナプス結合があると、近傍の他の細胞からの興奮性入力を共有することを発見し、特異的な神経結合により形成される微小神経回路が視覚野内に埋め込まれていることを報告した。しかしながら機能コラムを有する動物の視覚野においても、この微小神経回路網が存在するのかについては明らかにされていない。

2. 研究の目的

大脳皮質視覚野で見出された、特異的な神経結合により形成される微小神経回路網は情報処理の基本単位と考えられるが、ラットは機能コラムを有しないため、コラムとの対応関係やコラムよりさらに小さい情報処理単位であるかは不明である。本研究では、コラム構造を持つネコ視覚野を対象とし、*in vivo* と *in vitro* の実験を組み合わせ、解析を行い、機能コラムと微小神経回路網の対応関係を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 生後4週齢の麻酔したネコに様々な方位の視覚刺激を提示し、大脳皮質一次視覚野の方位選択性コラムを内因性シグナルによる光学的計測法によりマッピングした。方位選択性コラムの位置を蛍光色素でマークした後、その視覚野よりスライス標本を作製した。
 (2) スライス標本を蛍光顕微鏡で観察し、方位選択性コラムの位置を同定した。単一の方位選択性コラムの中心にある、複数の2/3層錐体細胞からホールセルパッチクランプ法を用いて同時記録を行い、興奮性シナプス結合の有無を調べた。ケージドグルタミン酸のレーザーフォトリシスを利用した光スキャン局所刺激法により、2個の記録細胞に誘発される興奮性シナプス後電流(EPSC)を記録した(図1)。同時に記録されたEPSCに相互相関解析法を適用し、2つの記録細胞に共通して入力する細胞の割合を明らかにし、微小神経回路を同定した。

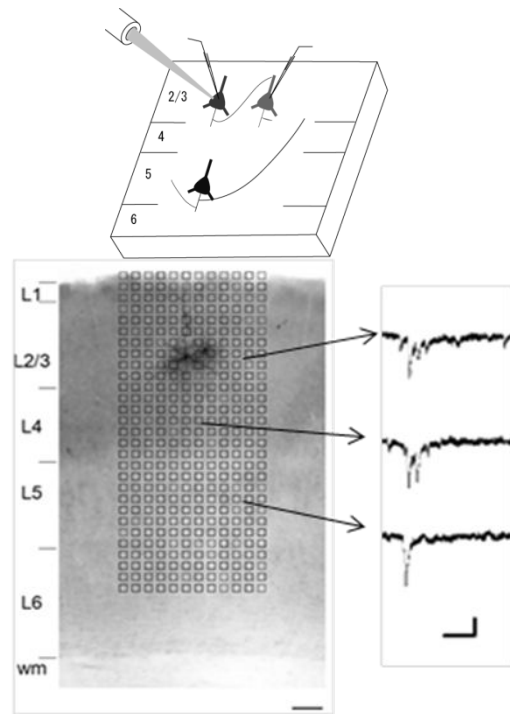


図1: ケージドグルタミン酸のレーザーフォトリシスによる神経回路解析法。ケージドグルタミン酸灌流中のスライス標本から2個の2/3層錐体細胞から同時ホールセルクランプ記録を行った(上)。UV照射により局所的にグルタメートを放出させ、その部位に存在する細胞から記録細胞への興奮性入力を調べた(下)。左下にあるトレースはそれぞれの場所への刺激により誘発されたEPSCを示す。

これらの解析により、機能コラム内に微小神経回路が存在するかを検証した。

4. 研究成果

生後4週齢のネコを対象に、麻酔下で、一次視覚野の方位選択性コラムを内因性シグナルによる光学的計測法によりマッピングし、その数箇所を蛍光色素で標識した(図2)。

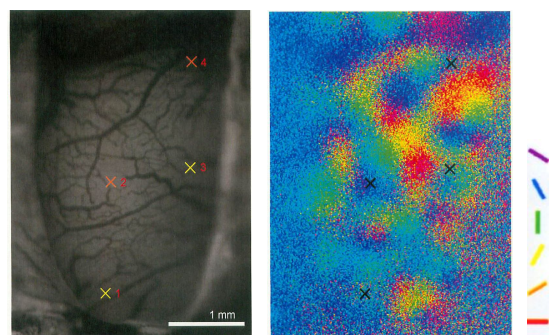


図2:ネコ大脳皮質一次視覚野の方位選択性コラム。視覚野上の血管像(左)とそれぞれの方位の視覚刺激に強く反応した領域をカラー表示した方位選択性マップ(右)を示す。Xで示した部分は方位選択性コラムの位置をマークするための蛍光色素注入部位、右側のカラーバーは、それぞれカラー表示された方位選択性コラムの最適方位を示す。

上述の方法で、方位選択性コラムをマッピングした視覚野から急性スライス標本を作成した。蛍光色素のマークを手がかりに、スライス標本上で方位選択性コラムの位置を同定し、同一の方位選択性コラム内に存在したと推定される複数の2/3層錐体細胞から同時にホールセル記録を行った。図3に記録した2/3層錐体細胞の形態の例を示す。同時記録したペアの片方に脱分極通電を与えて活動電位を発生させ、その活動電位によりもう片方の錐体細胞にEPSCが観察されるかどうかを調べることで、神経結合の有無を調べた。

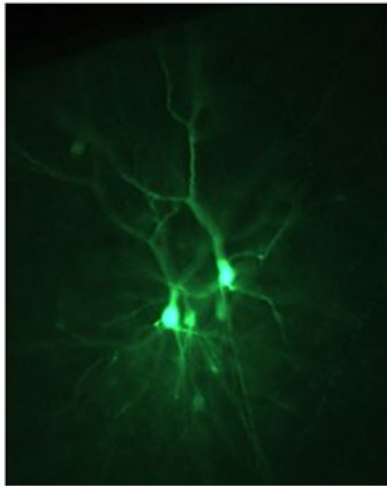


図3:ネコ一次視覚野のスライス標本から同時記録した2/3層錐体細胞。電気生理学的記録実験終了後に、あらかじめ電極内に封入したバイオサイチンにより細胞内染色を行った。

その結果、記録した2/3層錐体細胞ペアの約30%のペアで興奮性シナプス結合が観察された。この結果は我々を含むグループの先行研究により報告されている、マウスやラット視覚野2/3層錐体細胞間での神経結合確率とほぼ一致していた。

次に、ケージドグルタミン酸のレーザーフォトリシスを利用した光スキャン局所刺激法を適用し、視覚野全層にある個々のニューロンを網羅的に刺激した。それらの刺激によ

り誘発されるEPSCを錐体細胞ペアから記録したところ、テストしたすべての2/3層錐体細胞は、近傍にある2/3層興奮性細胞と記録細胞の直下にある4層興奮性細胞から強い入力を受けていた。5層の興奮性細胞からも興奮性入力を受けていたが、その頻度は2-4層に比べて低かった。

錐体細胞ペアから同時記録したEPSCに相互相関解析を適用し、各層からの興奮性入力記録した細胞ペアにどの程度共通して入力しているのかを調べた。直接神経結合していた記録細胞ペアに相互相関解析を適用し、共通入力の割合を算出した例を図3に示す。ネコ視覚野の機能コラム内にある2/3層錐体細胞ペアが直接神経結合している場合は、同じ2/3層あるいは4層にある他の興奮性細胞から高い割合で共通入力を受けていた(図4)。2/3層や4層に比べて、5層からの共通入力は直接神経結合が見られたペアにおいても、低頻度であった。一方、同一のコラム内にあっても直接結合していない2/3層錐体細胞ペアは各層の興奮性細胞から共通入力の割合は全般的に低かった。

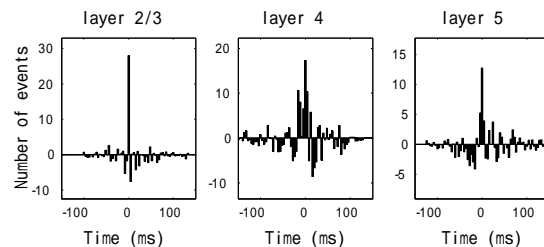


図4:ネコ一次視覚野の方位選択性コラム内にある2/3層錐体細胞ペアへの共通入力数。このペアには直接神経結合が見られた。3つのグラフはケージドグルタミン酸刺激を2/3層(左)、4層(中央)、5層(右)に与えた時に誘発された興奮性シナプス後電流に相互相関解析を適用した結果を示す。この例では、2/3層刺激において時間0のタイミングで特に多くの反応が見られ、2/3層錐体細胞から最も多くの共通入力を受けていた。

以上の結果は、高い視覚機能を持つネコの大脳皮質一次視覚野においても、ラットと同様に微小神経回路網が構築されていることを示しており、この微小神経回路網は機能コラム内に埋め込まれていることが示唆された。従って、微小神経回路網は機能コラムよりもさらに小さな情報処理単位であると思われる、単一の機能コラム内に埋め込まれた複数の微小神経回路網により情報伝達・処理がパラレルに進む可能性が考えられる。視覚情

様式 C - 19、F - 19、Z - 19 (共通)

報処理の神経回路メカニズムを理解するためには、今後、それぞれの微小神経回路網が方位選択性以外にどのような視覚情報をコードしているかを明らかにすることが重要と考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.nips.ac.jp/research/group/post-7/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

吉村由美子 (YOSHIMURA, Yumiko)

生理学研究所・生体情報研究系・教授

研究者番号: 10291907