

平成 21 年 5 月 18 日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007-2008

課題番号：19500349

研究課題名（和文）サル大脳皮質一次視覚野に特異的に発現するセロトニン受容体の機能

研究課題名（英文）Functions of serotonergic receptors specifically expressed in the primary visual cortex of the monkey

研究代表者

佐藤 宏道（SATO HIROMICHI）

大阪大学・医学系研究科・教授

研究者番号：50154092

研究成果の概要：

霊長類の大脳皮質の領野特異性がどのような分子及び生理的メカニズムによって形成されているのかを明らかにするために、ニホンザルの大脳皮質の遺伝子発現を調べたところ、セロトニン受容体のサブタイプ 5-HT1B 受容体、5-HT2A 受容体が一次視覚野に高濃度に発現していることが明らかになった。これらの受容体遺伝子は一次視覚野の入力層である第 4 C 層および第 4 A 層の細胞に多く発現し、単眼性の視覚遮断を行ったところ 3 時間以内に発現の低下が観察された。すなわち、これらの遺伝子発現は活動依存的な制御を受けており、概日リズムなど、大脳の活動性を数時間のオーダーで詳説している可能性が示唆された。

さらにこれらの受容体サブタイプの生理的意義を明らかにする目的で、これらの受容体の作動薬・拮抗薬の局所投与と、ニューロン活動の記録を同時に行う電気生理実験を行った。一次視覚野ニューロンにおいて、5-HT1B 受容体作動薬は低発火頻度の反応に対して抑制、高発火頻度の反応に対して促進性の効果を示した。5-HT2A 受容体作動薬はその逆の効果を示した。これらの結果は、活動依存的に発現調節を受けるセロトニン受容体が、ニューロンの活動レベルを、入力強度に依存して調節し、かつ、5-HT1B と 2A が相補的な役割を担っていることを示している。一次感覚野のレベルでの入力-出力関係の調節は大脳皮質機能に大きな影響を与える。調節性神経伝達物質（ニューロモジュレータ）の働きを理解する上で極めて重要な成果である。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2008 年度	1,800,000	540,000	2,340,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：視覚神経科学

科研費の分科・細目：神経科学、神経・筋肉生理学

キーワード：感覚系神経生理学

1. 研究開始当初の背景

佐藤ら（大阪大学）はこれまでサル及びネコの大脳皮質一次視覚野の機能構築を明らかにする研究を行ってきた。単一ニューロン活動を記録し、定量的にコントロールされた視覚刺激に対する応答特性を調べながら、神経伝達物質やその受容体に対する作動薬・拮抗薬を局所投与することにより神経回路の機能がどのような分子メカニズムで構成されているのかを明らかにしてきた。他方で、山森ら（基礎生物学研究所）は、霊長類の大脳皮質の領野特異性の分子メカニズムを明らかにするために、大脳皮質に特異的に発現する遺伝子の解剖学的探索を進めてきた。

今回の研究対象となったセロトニン受容体は鬱病や日周期リズムなどとの関連が指摘されており、その発現実態や機能的なダイナミクスを明らかにすることは、脳の構成原理についての基礎的な知見をもたらすだけでなく、精神疾患の治療方法への応用可能な幅広い意義をもつ。

本研究は、研究手法の全く異なる2研究室の共同研究により、遺伝子発現の解析、その発現コントロールのメカニズム解析、生理機能の解析を統合的に行うこととなった。

2. 研究の目的

霊長類の大脳皮質に種特異的かつ領野特異的に発現する遺伝子を探索し、それらの遺伝子が脳皮質の構造的・機能特異性を形成することに貢献している可能性を検討し、その機能を解明することを目的とした。そのような遺伝子が明らかになることにより、霊長類脳の高次機能の分子メカニズムの理解が飛躍的に進むことが期待される。

3. 研究の方法

解剖学実験：

実験動物としてアフリカミドリザル、ニホンザル、アカゲザル及びカニクイザルを用いた。restriction landmark cDNA scanning (RLCS) および semiquantitative reverse transcription-PCR (RT-PCR)法により、大脳皮質の特定領野に特異的に発現する遺伝子を探索し、特に 5-HT 受容体の遺伝子が同定された。

in situ hybridization (ISH)法および蛍光組織法により、発現領野、層、細胞の詳細な形態学的解析を行った。

発現調節の解析：

単眼にテトロドトキシンを注入することにより、ニューロン活動を数時間遮断し、その後一次視覚野における 5-HT_{1B} 受容体、5-HT_{2A} 受容体の発現パタンの変化を解析した。

生理学実験：

麻酔・非動化したニホンザルの一次視覚野において、微小多連管電極電極を用いた視覚生理実験を行った。サイン波状に輝度変化するグレーティングを視覚刺激として視覚応答を誘発し、それに対する受容体作動薬および拮抗薬の局所投与効果を定量的に調べた。また、層による受容体機能の差についても検討を行った。

4. 研究成果

マカクザルの領野特異的に発現する遺伝子を探索し、脳の広汎な領域で活動性のコントロールに関与している神経伝達物質セロトニンの受容体サブタイプである 5-HT_{1B} 受容体と 5-HT_{2A} 受容体の mRNA が一次視覚野で高濃度に発現していることを発見した。in situ hybridization 法による解析によりこれらの mRNA はともに視床外側膝状体から

の入力線維を受ける4C層および4A層に局在し、しかも同一細胞において共発現していることが明らかになった。

これらの受容体発現の調節メカニズムを調べるために、サルの片眼にNa⁺チャンネルの阻害薬であるテトロドトキシンを注入して神経活動をとめたところ、3時間以内にmRNA発現の明瞭な低下が観察され、これらの受容体の量が神経活動イオンの調節されていることがわかった。

一次視覚野に高濃度発現しているこれらの受容体の機能を調べるために、電気生理実験により単一ニューロン活動を観察した。サイン波状に輝度変化するグレーティング刺激を視覚刺激として呈示し、コントラスト（入力強度）を変化させることにより誘発された活動電位を記録し、コントラスト・反応曲線を作成した。観察下のニューロンにセロトニン受容体の作動薬および拮抗薬を微量局所投与することにより受容体の活動をコントロールし、コントラスト・反応曲線にどのような修飾効果が現れるのかを調べた。5-HT_{1B}受容体の作動薬により、発火頻度の高いニューロン活動は促進作用を受け、低いニューロン活動は抑制された。この結果、入出力ゲインの増大が見られた。これに対して、5-HT_{2A}受容体の作動薬は逆の振る舞いをした。

これらの結果はセロトニンシステムが一次視覚野の視覚情報処理を脳の活動状況に依存してダイナミックに調節しており、そのために5-HT_{1B}受容体と5-HT_{2A}受容体が協調的に働いていることを示唆している。これらの受容体の発現は視床外側膝状体においても高く、初期視覚系におけるセロトニンによる活動調節が、それ以後の脳全体の活動性に影響を与えていると考えられる。

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 2件)

Watakabe, A., Komatsu, Y., Sadakane, O., Shimegi, S., Takahata, T., Higo, N., Tochitani, S., Hashikawa, T., Naito, T., Osaki, H., Sakamoto, H., Okamoto, M., Ishikawa, A., Hara S.-i., Akasaki, T., Sato, H. and Yamamori, T. (2009) Enriched expression of serotonin 1B and 2A receptor genes in macaque visual cortex and their bidirectional modulatory effects on neuronal responses. *Cerebral Cortex*, doi:10.1093

Okamoto, M., Naito, T., Sadakane, O., Osaki, H. and Sato, H. (2009) Surround suppression sharpens orientation tuning on the cat primary visual cortex. *Eur. J. Neurosci.*, 29: 1035-1046.

〔学会発表〕(計 9件)

Hara, S.-I., Naito, T., Okamoto, M., Shimegi, S., Sato, H. Spatiotemporal property of surround suppression elicited by stationary flashed grating in the lateral geniculate nucleus of the cat. (2008) 第31回日本神経科学大会、2008年7月10日、東京

Osaki, H., Naito, T., Sadakane, O., Okamoto, M., Sato, H. (2008) Spatial frequency tuning of the cat V1 changes depending of the stimulus: a possible basis of scale-invariant perception. 第31回日本神経科学大会、2008年7月9日、

東京

Okamoto, M., Naito, T., Hara, S., Shimegi, S., Sato, H. (2008) Temporal dynamics of orientation tuning in cat LGN. 第 31 回日本神経科学大会、2008 年 7 月 9 日、東京

Naito, T., Osaki, H., Okamoto, M., Sato, H. (2008) Contrast-invariant orientation tuning in the cat LGN. 第 31 回日本神経科学大会、2008 年 7 月 9 日、東京

A. Maruyama, A. Ishikawa, D. Hosoyama, Y. Yoshimura, H. Tamura, H. Sato and I. Fujita (2007) Developmental changes in electrophysiological properties of layer III pyramidal neurons in macaque visual cortices. 第 30 回日本神経科学大会、2007 年 9 月 10-12 日、横浜

A. Ishikawa, A. Maruyama, D. Hosoyama, Y. Yoshimura, H. Tamura, H. Sato and I. Fujita (2007) Comparison of electrophysiological properties of layer III pyramidal neurons between cortical areas V1 and TE of the macaque. 第 30 回日本神経科学大会、2007 年 9 月 10-12 日、横浜

S. Shimegi, A. Ishikawa, H. Kida, H. Sakamoto, H. Sato. (2007) Strength of surround suppression is proportional to the time course of response magnitude in cat V1. 第 30 回日本神経科学大会、2007 年 9 月 10-12 日、横浜

Sadakane, O., Watakabe, A., Komatsu,

Y., Shimegi, S., Naito, T., Osaki, H., Sato, H. and Yamamori, T. (2007) Functional effects of 5-HT1B and 5-HT2A receptors in macaque V1. 第 30 回日本神経科学大会、2007 年 9 月 10-12 日、横浜

Sadakane, O., Watakabe, A., Komatsu, Y., Shimegi, S., Naito, T., Osaki, H., Sato, H. and Yamamori, T. (2007) Activity-dependent effects of 5-HT1B and 5-HT2A receptors in macaque V1. 第 84 回日本生理学会、2007 年 3 月 21 日、大阪

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐藤 宏道 (SATO HIROMICHI)
大阪大学・医学系研究科・教授
研究者番号： 50154092

(2) 研究分担者

七五三木 聡 (SHIMEGI SATOSHI)
大阪大学・医学系研究科・准教授
研究者番号： 20271033

定金 理 (SADAKANE OSAMU)

基礎生物学研究所・脳生物学研究部門・助教
研究者番号： 90446261

(3) 連携研究者

なし