

平成 21 年 3 月 31 日現在

研究種目：若手研究(B)  
 研究期間：2007～2008  
 課題番号：19700306  
 研究課題名（和文）睡眠一覚醒を制御する皮質下神経核が大脳皮質微小回路へ及ぼす作用の解明  
 研究課題名（英文）Investigation on the effects of Basal Forebrain Nuclei on the cortical micro circuit in relation with sleep and awake regulation  
 研究代表者  
 高田 則雄（TAKATA NORIO）  
 独立行政法人理化学研究所・平瀬研究ユニット・研究員  
 研究者番号：50415212

研究成果の概要：マイネルト基底核などの皮質下神経核は大脳皮質へ作用して、睡眠一覚醒を制御する。従来の研究の観測対象は大脳皮質の脳波や血流、アセチルコリン放出量であった。そのため、マイネルト基底核が大脳皮質のグリア細胞へ与える作用はほとんど知られていない。本研究は *in vivo* 2 光子顕微鏡を用いることで、生きた動物個体の大脳皮質に存在する神経細胞のみならずグリア細胞の活動も計測した。その結果、マイネルト基底核の活動が、大脳皮質神経細胞だけでなく、グリア細胞の細胞内カルシウム濃度も上昇させることを発見した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,800,000	0	1,800,000
2008 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	450,000	3,750,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：神経科学・神経科学一般

キーワード：*in vivo*、イメージング、大脳皮質、アセチルコリン、カルシウム、2 光子顕微鏡、マイネルト基底核、覚醒

## 1. 研究開始当初の背景

コリン作動性神経核であるマイネルト基底核 (NBM) は脳幹網様体賦活系 (大脳覚醒システム) の一部である。NBM は大脳皮質の広範な領域に投射しており、NBM の活性化は皮質脳波を脱同期化 (覚醒化) する。大脳皮質へ及ぼす NBM の作用についての従来の研究では脳波計や微小電極を用いてきた。それらの方法では大脳皮質における神経細胞全体の平均的活動もしくは単一の神経細胞の活動しか計測できない。そのため、NBM が微小回路網としての大脳皮質にどのように作用するか全く不明である。微小回路網としての活動を知るには、大脳皮質に存在する

多数の神経細胞の活動を単一細胞レベルで同時に測定する必要があるからである。さらに、神経細胞の発火活動を指標とした従前の方法では、大脳皮質に存在するグリア細胞へ及ぼす NBM の作用を検出できない。グリア細胞は神経情報伝達に関与する可能性が指摘されており、実際、グリア細胞はシナプス部位を取り囲んで情報伝達物質 (アセチルコリン、グルタミン酸など) を放出するだけでなく、それら情報伝達物質に対する受容体を持つ。そのため、NBM の作用を理解するにはグリア細胞への影響も知る必要がある。近年、2 光子顕微鏡を用いた *in vivo* ラットの脳皮質研究が盛んになっている。2 光子顕微鏡

鏡を用いれば、大脳皮質における神経細胞だけでなくグリア細胞の活動も単一細胞レベルで同時に観察できる。ただし、これまでの2光子顕微鏡を用いた研究は大脳皮質内だけを対象としたものがほとんどで、皮質下神経核が大脳皮質に及ぼすような長距離神経回路作用についての研究はなかった。

## 2. 研究の目的

睡眠-覚醒サイクルを制御するコリン作動性神経核(マイネルト基底核 [NBM])の活性化が、大脳皮質微小回路の活動をどのように修飾するか研究した。具体的には、NBMを刺激電極で活性化させた時に、麻酔下マウスの大脳皮質細胞(神経細胞、グリア細胞)の活動がどう変化するかを、2光子顕微鏡を用いて二次元可視化解析した。本研究によって、大脳皮質の神経細胞だけでなくグリア細胞に対する皮質下神経核の作用を、単一細胞レベルで初めて解明できた。

## 3. 研究の方法

まず研究の前半に、皮質下神経核(NBM)を刺激する手法を確立した。実験には成熟したオスのマウスを用いた。ウレタン麻酔後、脳定位固定装置を用いてNBMへタングステン製の刺激電極を刺入した。皮質下神経核の刺激が成功していることを確認するために、大脳皮質神経細胞の興奮性集合電位を計測した。研究の後半として、NBMが大脳皮質へ与える作用を2光子顕微鏡観察した。NBMに刺激電極が埋め込まれた動物の頭蓋骨に頭蓋固定装置し、頭蓋骨に小さな穴(直径2mm)を開け、脳表面の硬膜およびクモ膜を取り除いて大脳皮質(体性感覚野)を露出させて、観察領域とした。観察領域の大脳皮質細胞をカルシウム感受性蛍光色素で染色した。神経細胞とグリア細胞を識別するために、アストロサイトだけを選択的に染色する色素を用いた。2光子顕微鏡を用いて大脳皮質細胞(神経細胞とグリア細胞)のカルシウム活動を実時間2次元可視化解析し、NBM刺激前後のそれらの活動を比較した。また、大脳皮質に刺入した記録用微小電極を用いて、2光子顕微鏡観察と同時に大脳皮質神経細胞の集合電位も記録した。

## 4. 研究成果

以上の計測の結果、NBM刺激による皮質脳波の徐波から速波への変化(覚醒化)は、大脳皮質全域で生じることを見つけた。さらに、NBM刺激によって大脳皮質細胞の細胞内Ca<sup>2+</sup>が上昇することを初めて発見した。Ca<sup>2+</sup>上昇は神経細胞だけでなく、グリア細胞でも生じた。興味深いことに、NBM活性化による大脳皮質脳波変化は皮質全域で生じたのに対して、大脳皮質細胞のCa<sup>2+</sup>上昇はNBM活性化部位に

じて皮質の一部に局限されていた。これまでに知られているNBMの脳作用は、(1)睡眠-覚醒制御および(2)皮質可塑性の亢進である。睡眠-覚醒制御においては、大脳皮質全域の制御を行う必要があり、皮質可塑性においては、大脳皮質の局限された部分だけに作用を及ぼす必要があると思われる。本研究結果から、NBMの作用の内、脳波変化は睡眠-覚醒制御に関連し、大脳皮質細胞のCa<sup>2+</sup>上昇は皮質可塑性に関与している可能性が考えられる。

## 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)

① Takata Norio, Hirase Hajime. Cortical layer 1 and layer 2/3 astrocytes exhibit distinct calcium dynamics in vivo. PLoS ONE. 3 (6), e2525, 2008, 有り.

② 平瀬 肇, 高田 則雄. イン・ビボにおけるアストロサイトの動態計測. BRAIN and NERVE. 59 (7), 773-781, 2007, 無し.

[学会発表] (計 2件)

① 高田 則雄, 平瀬 肇. in vivoにおけるアストロサイトの自発的カルシウム活動は大脳皮質の第1層と第2/3層とで異なる、日本神経科学会、2007.9.12、パシフィコ横浜

② Takata Norio, Hirase Hajime. Spontaneous calcium activities of astrocytes in vivo differ between cortical layer 1 and layer 2/3, Society for Neuroscience, 2007.11.4, San Diego, USA

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

高田 則雄 (TAKATA NORIO)

独立行政法人理化学研究所・平瀬研究ユニット・研究員

研究者番号: 50415212

### (2) 研究協力者

平瀬 肇 (HIRASE HAJIME)

独立行政法人理化学研究所・平瀬研究ユニット・ユニットリーダー

研究者番号: 90392084

矢作 和子

独立行政法人理化学研究所・平瀬研究ユニット・技術員

研究者番号無し