

平成22年 4月14日現在

研究種目：若手研究(B)  
 研究期間：2008～2009  
 課題番号：20700316  
 研究課題名（和文） ヒゲ感覚システムにおいて視床から大脳皮質への入力形成する回路の構造と機能  
 研究課題名（英文） Structure and function of thalamocortical input in whisker system

研究代表者  
 古田 貴寛 (Furuta Takahiro)  
 京都大学・医学研究科・助教  
 研究者番号：60314184

研究成果の概要（和文）：パレル皮質 septum 領域に存在するニューロンの大きな受容野が視床後内側腹側核の背側内側領域に存在するニューロンからの入力によって獲得されることを明らかにした。また、barrel に投射する典型的なタイプの視床ニューロンは、反応特性における方位選択性と神経終末分布の barrel 内での偏りとの関係によって二つのグループに分かれることが分かった

研究成果の概要（英文）：We showed that the receptive field of septal cells was independent of paralemniscal inputs, and that septal cells derived their receptive field input from neurons in the dorsal part of the thalamic barreloids. We further showed that the terminal field of single thalamic neurons in a barrel is markedly anisotropic, and that the location of boutons with respect to the somatotopic map is either correlated or anticorrelated with the angular tuning of the thalamic neuron.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2009年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：脳神経科学・神経解剖学、神経病理学

キーワード：神経回路網

## 1. 研究開始当初の背景

ラットにおいて最も優先的な情報源であるヒゲの感覚情報はその個体をとりまく空間の状況を認知するうえで大変重要である。ラットを材料として感覚システムを研究する際、最も発達した感覚系であるヒゲ感覚システムを対象にするのは非常に有効なこと

である。ヒゲの知覚情報はヒゲの根元にある受容体から発し、三叉神経節を介して三叉神経核に到達する。三叉神経核のニューロンはその入力によって活動し、さらに出力を視床へと送る。その情報は脳皮質に送られ、最終的に空間的情報が再構築されるものと考えられる。解剖学的側面においてこのシステ

ムは非常にユニークな構造を持つ。中枢では一本一本の感覚毛の知覚に対応して反応するニューロンのグループがそれぞれ存在し、その分布は感覚毛の空間的配置に対応している。大脳皮質ではそれぞれのヒゲに対応する領域が円柱状になって並んでいるので、それらは Barrels (樽) とよばれている。

## 2. 研究の目的

### (1) 視床ニューロンがコードする情報の解析

ヒゲ刺激に反応する視床ニューロンはどのような情報を運んでいるのであろうか。先行研究によれば「刺激の方向」「ヒゲが動いた距離」「ヒゲが動く速度」「ヒゲに働くトルク」等といった情報がコードされていると考えられる。それらの要素すべてに注意を払うべきであるが、本申請課題では特に「刺激の方向」に注目してデータを解析する。ほぼ真横に向かって生えているヒゲが押し倒される方向は上、前、下、後というように360度考えられる。この範囲の中である方向に倒されたときニューロンは強く反応する。これをそのニューロンの方向選択性とよんでいるが、これが次に紹介する軸索の形態学的特徴とどのような関係にあるか調べる。

### (2) 視床ニューロンの軸索の大脳皮質内における分枝パターンの形態学的解析

ヒゲ刺激に反応する視床ニューロンは前述した大脳皮質における Barrel に軸索を送る。その軸索の分枝パターンは接線方向平面に投影すると Barrel 内で偏っていることが報告されている。この偏りが視床ニューロンの方向選択性とどのような関係にあるか調べるために軸索の形態を再構築する。

この(1)と(2)については先行研究により個別にはある程度の所見が報告されている。しかし、統合的視点から、特に形態学的特徴と生理学的特徴とを合わせて解析した研究は未だなされていない。

### (3) 大脳皮質ニューロンの反応特性、Barrel 内の位置および形態学的特徴

ヒゲ刺激に反応する大脳皮質ニューロンの方向選択性はその Barrel 内での位置に関係しているという報告がある。しかし先行研究ではそのニューロンの位置や層構造および樹状突起や軸索の形態学的構造が記載されていない。本研究ではこれらの要素について生理学的特性と形態学的特徴を合わせて解析していく。

## 3. 研究の方法

ピエゾ素子によるヒゲ刺激とガラス電極を用いた細胞外記録と juxtacellular injection (細胞近接注入法) を組み合わせる実験により目的が果たせると考えられる。ラットはケタミンとキシラジンのカクテル

によって麻酔され、定位脳手術装置に固定される。ヒゲは5mmの長さに切りそろえられ、ピエゾ素子刺激装置がセットされる。ピエゾ素子は電気信号により正確に形状を変化させる材質で、これをスティミュレータでコントロールすることによりヒゲをある方向から一定時間押さえることが出来る。このピエゾ素子を駆動する電気信号はコンピュータにも取り込まれる。細胞標識物質(ビオチン化デキストランアミン、BDA)を含んだ電極内液を入れたガラス電極は視床の後内側腹側核に刺入され、電動マニピュレータによって動かされる。電極内電位は増幅装置によって増幅されコンピュータに取り込まれる。電極先端がニューロンに十分近づくとその単一ニューロンの発火活動が記録できる。この状態でヒゲ刺激に対するニューロンの反応を記録する。その後、発火活動を観察しながら電極に電流を流すと、電極が細胞体にほぼ密着している場合、ニューロンは脱分極され連続して発火する。これによってそのニューロンに細胞標識物質が注入される(Juxtacellular injection)。この実験後にラットを回復させ約2日の生存期間を与える。その間に注入された標識物質は軸索の中を拡散し大脳皮質に広がる分枝の隅々まで行き渡る。その後、ラットを還流固定し脳の切片をABCキットで震盪して標識物質にペルオキシダーゼを付加する。さらに tyramine signal amplification system (通称 TSA) によって標識された細胞にビオチンを大量に付加する。このシステムはペルオキシダーゼ存在下で過酸化水素を基質としてビオチン化チラミンが活性化され組織に共有結合するという現象を利用したものである。もう一度 ABC キットでペルオキシダーゼを付加し、DAB 発色を行う。このような行程を経ることにより視床から大脳皮質に到達する軸索線維の形態を非常に良く視覚化することができる。この軸索の分枝と神経終末様構造の分布をコンピュータ化された顕微鏡描画器(neurolucida)を用いて3次的に再構築する。これがサイトクロムオキシダーゼ染色によって視覚化される Barrel の構造とどのような関係にあるかを解析する。皮質内での軸索分布がその軸索が運ぶ情報の特徴(例えば方向選択性)と何らかの関係があると推測される。

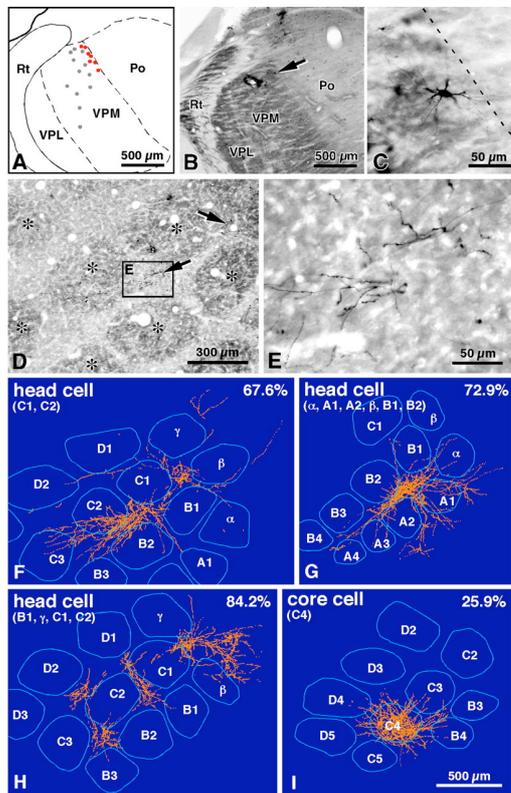
大脳皮質 Barrel 内の単一ニューロンのヒゲ刺激に対する反応をガラス電極を用いて記録する。大脳皮質のニューロンは反応は視床のそれと異なっている。第4層のニューロンは方向選択性を示すなど視床ニューロンに近い特性があるが、その他の層では違う特性で情報をコードしていると考えられる。記録を取ったニューロンの属する層や Barrel 内での位置などを知るために juxtacellular

injection 法によりニューロンを標識する。ニューロンの反応特性としては、まず基本的なデータである「潜時」や「反応の大きさ(発火放電の数)」等から解析を行うが、さらには「方向選択性」のみでなく「ヒゲが動いた距離」「ヒゲが動く速度」「ヒゲに働くトルク(加速度)」といった情報がどのように発火特性に反映されているのかを検討する。そのようにして解析された大脳皮質ニューロンの活動特性が層構造や樹状突起および軸索の形態学的特徴とどのような関係になるか統計的に解析する。

#### 4. 研究成果

研究計画のとおり視床ニューロンのヒゲ刺激に対する反応を記録した後、BDA を注入しニューロンの標識を行った。大脳皮質に到達する軸索まで可視化され、その終末の分布はニューロンの受容野の大きさと関係があることが分かった。すなわち単一のヒゲにのみ反応するニューロンはそのヒゲに対応する barrel に多くの神経終末を集中して分布させ、一方、複数のヒゲに反応するニューロンはそれらのヒゲに対応する領域の septa (barrel と barrel の間) に多くの神経終末を分布させていた。septa に存在するニューロンは複数のヒゲに対し反応することが知られているが、その反応の基盤となるのは、視床に存在する複数のヒゲに反応するニューロンから大脳皮質に投射される興奮性の入力であることが示された (図1)。

図1 視床から大脳皮質に入力する神経終末の分布



また、barrel に神経終末を集中させるタイプのニューロンについてさらに詳しく解析を行ったところ、活動特性における方位選択性と神経終末の分布様式との関係によって2つのグループに分けられることが分かった。一つめのグループはそのニューロンのよく反応する方位に対応する barrel 内小領域に神経終末を集中させ、二つ目のグループはその反対であった。また二つ目のグループは一つ目のグループより短い潜時で反応することが分かり、その反応時間の違いにより barrel 内で小さな興奮の波が生じることが示唆された。この研究によって明らかになった視床から大脳皮質への入力様式はその先の大脳皮質における情報処理を理解する上で重要な所見となった。

#### 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7件)

(1) Furuta T, Urbain N, Kaneko T, Deschenes M. (2010) Corticofugal control of vibrissa-sensitive neurons in the interpolaris nucleus of the trigeminal complex. *J Neurosci* 30(5):1861-68 査読有り

(2) Ohira K, Furuta T, Hioki H, Nakamura CK, Kuramoto E, Tanaka Yasuyo, Funatsu N, Shimizu K, Oishi T, Hayashi M, Miyakawa T, Kaneko T, Nakamura S. (2010) Ischemia-induced neurogenesis of neocortical layer 1 progenitor cells. *Nat Neurosci* 13(2):173-179 査読有り

(3) Furuta T, Kaneko T, Deschenes M. (2009) Septal neurons in barrel cortex derive their receptive field input from the lemniscal pathway. *J Neurosci* 29(13):4089-95 査読有り

(4) Nakamura KC, Fujiyama F, Furuta T, Hioki H, Kaneko T. (2009) Afferent islands are larger than mu-opioid receptor patch in striatum of rat pups. *Neuroreport* 20(6):584-8 査読有り

(5) Kuramoto E, Furuta T, Nakamura KC, Unzai T, Hioki H, Kaneko T. (2009) Two types of thalamocortical projections from the motor thalamic nuclei of the rat: a single neuron tracing study using viral vectors. *Cereb Cortex* 9(9):2065-77 査読有り

(6) Matsuda W, Furuta T, Nakamura KC, Hioki H, Fujiyama F, Arai R, Kaneko T. (2009) Single nigrostriatal dopaminergic neurons form widely spread and highly dense axonal arborizations in the neostriatum. J Neurosci 29(2):444-53 査読有り

(7) Nishino E, Yamada R, Kuba H, Hioki H, Furuta T, Kaneko T, Ohmori H. (2008) Sound-intensity-dependent compensation for the small interaural time difference cue for sound source localization. J Neurosci 28(28):7153-64 査読有り

[学会発表] (計 4 件)

(1) 古田貴寛 バレル皮質における中隔ニューロンの受容野は毛帯経路からの入力によって決定される 第 115 回解剖学会総会・学術集会 2010 年 3 月 29 日 岩手医科大学

(2) 古田貴寛 バレル皮質における中隔ニューロンの受容野は毛帯経路からの入力によって決定される 第 32 回日本神経科学大会 2009 年 9 月 17 日 名古屋国際会議場

(3) 古田貴寛 三叉神経核群の構造と機能：中間亜核に注目して 第 114 回解剖学会総会・学術集会 2009 年 3 月 28 日 岡山理科大学

(4) 古田貴寛 ラットのヒゲ感覚系における視床-大脳皮質投射の Barrel 内構築 第 31 回日本神経科学大会 2008 年 7 月 11 日 東京国際フォーラム

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

古田 貴寛 (FURUTA TAKAHIRO)

京都大学・医学研究科・助教

研究者番号：60314184