

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 25 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K18350

研究課題名(和文) 大脳皮質細胞サブタイプの脳波リズムへの関与

研究課題名(英文) Involvement of cortical neuron subtypes in the brain rhythms.

研究代表者

牛丸 弥香 (Ushimaru, Mika)

京都大学・医学研究科・特定研究員

研究者番号：90604554

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,900,000円

研究成果の概要(和文)：睡眠時や麻酔下の大脳皮質から記録した脳波では徐波振動が観察され、個々の錐体細胞と同期して脱分極(Up)相と過分極(Down)相を繰り返している。さらにそのUp相の中にはガンマやスピンドルという振動が含まれるが、その詳細な生成メカニズムや神経活動との関係性は未だ良くわかっていない。本研究において、大脳皮質5層の異なる投射先を持つ錐体細胞(CCS細胞、CPn細胞)と非錐体細胞(FS細胞)の発火を記録しスピンドル波・ガンマ波との関係を調べたところ、細胞サブタイプによってモジュレーションを受ける細胞の割合や、スピンドル波・ガンマ波中の発火位相が異なることがわかった。

研究成果の概要(英文)：Slow-wave oscillations, the predominant brain rhythm during sleep, are composed of Up/Down cycles. Depolarizing Up-states contain spindle and gamma components. But it is unknown how diverse subtypes of neurons affect to gamma/spindle waves. In this study, I recorded neural activity from cortical neuron subtypes (CCS, CPn and FS cells) from layer 5 and analyzed their relation to the gamma/spindle rhythms. I found that modulated cell ratio and firing phase in spindle/gamma oscillation were dependent on cell subtype and sublayer. These results suggest that firing activity of diverse neuron subtypes is highly associated with brain rhythms.

研究分野：神経科学

キーワード：大脳皮質 徐波

1. 研究開始当初の背景

前頭皮質の錐体細胞は皮質外投射先から複数のサブタイプに分けられ、GABA 作動性の非錐体細胞もその形態や発現物質から多様なサブタイプに分けられる。このような多様なニューロンタイプから構成される大脳皮質局所回路は、独立して自発活動をしなごら、同時に、皮質全体としても統一された自律活動を行っているが、その詳細な同期活動の生成メカニズムについては殆どわかっていない。大脳皮質から記録される脳波では、睡眠時または麻酔下で徐波と呼ばれる 1 Hz 以下の振動やそれに入れ子となったスピンドル波(7-14 Hz)、ガンマ波(30-80 Hz)などが観察される(図 1)。

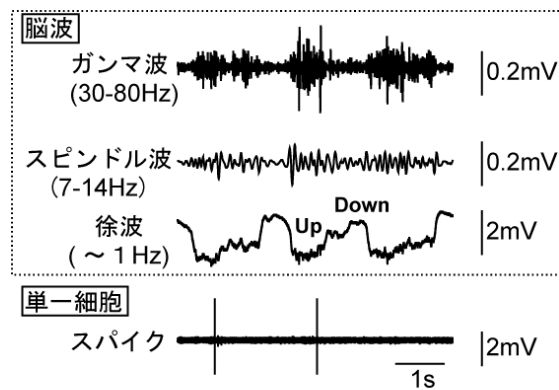


図 1 脳波成分と単一皮質細胞の発火

徐波は大脳皮質内で形成され、スピンドル波は視床内で作られ皮質-視床間の情報伝達において重要であると考えられている。また、視床から大脳皮質への入力密度は層構造に沿って異なり、層特異的な視床入力が各層の皮質細胞と機能的回路を形成すると想定される。ガンマ波は皮質内で錐体細胞-GABA細胞の相互結合で作られ、海馬領域においては神経細胞の発火がサブタイプ特異的にガンマ波によって phase lock を受けると報告されているが、大脳皮質においては個々の神経細胞の活動との関係やガンマ波の発生メカニズムは詳細に明らかにされていない。

2. 研究の目的

睡眠時や麻酔下の大脳皮質から記録した脳波では徐波振動が観察され、個々の錐体細胞と同期して脱分極 (Up) 相と過分極 (Down) 相を繰り返している。さらにその Up 相の中にはガンマやスピンドルという振動が含まれる。ガンマ波の発生には皮質の抑制性細胞が主要な役割を果たし、スピンドル波は視床網様核がそのリズム生成に重要であると知られている。しかし、その詳細な生成メカニズムや神経活動との関係性は未だ良くわかっていない。本研究では、サブタイプや層を同定した大脳皮質神経細胞の発火活動とスピンドル波・ガンマ波と相関を調べ、これらのリズムの生成機構や皮質内での機能解

明への貢献を目指す。

3. 研究の方法

麻酔下で見られる脳波中のスピンドル波・ガンマ波における情報処理を理解するために、大脳皮質のサブレイヤーを同定した上で、異なるサブタイプの皮質錐体細胞と抑制性細胞の発火活動を比較した(図 2)。皮質下投射先の違う錐体細胞サブタイプは、傍細胞記録での逆行性応答、Neurobiotin による細胞内染色を組み合わせることで 2 種類[(1)同側橋核に投射する錐体細胞 [皮質橋核細胞, corticopontine (CPn) cell] ならびに (2) 両側の線条体に投射する錐体細胞 [交叉性皮質線条体細胞, crossed corticostriatal (CCS) cell] を同定した。抑制性細胞については、発火特性、細胞内染色、免疫組織化学的手法を組み合わせることで Fast spiking (FS) 細胞を同定した。このように同定した各細胞群において、スピンドル・ガンマ振動中でのユニット活動を解析した。

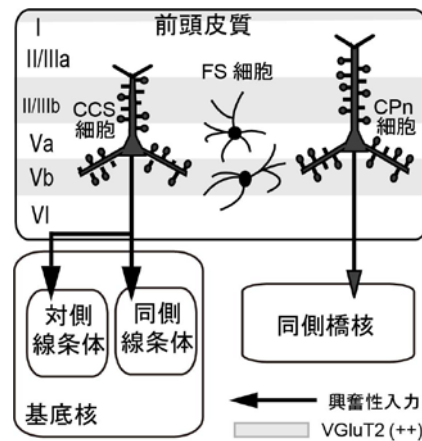


図 2 大脳皮質の細胞とその投射先

4. 研究成果

大脳皮質の投射先に対応した徐波形成との相関を理解するために、本研究では投射先が異なる錐体細胞サブタイプ(CCS細胞、CPn細胞)と非錐体細胞(FS細胞)の発火と徐波リズムとの関係性を調べた。大脳皮質5層から局所電場電位を記録するとともに、並行して5層の個々の細胞の発火の細胞外記録を行った。

(1) Neurobiotin によって染色した細胞の組織処理を行い、形態を再構成し解析したところ、CPn細胞の樹状突起は皮質表面層付近でより発達したタフト構造をもつことが示された(図 3)。これは、in vitro で報告された知見と一致する結果である。非錐体細胞(FS細胞)については、Parvalbumin の免疫反応性を確認し、特徴的な樹状突起ならびに軸索の構造を確認した。

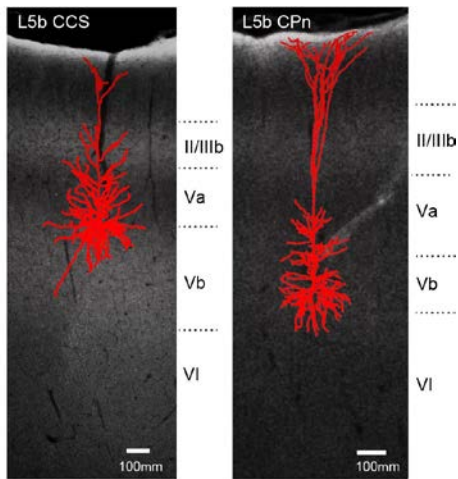


図3 CCS細胞とCPn細胞の再構成

(2) 細胞外記録により得られた個々の細胞の発火活動とスピンドル波・ガンマ波との関係を解析したところ、同定した皮質5層の細胞サブタイプ(FS細胞、CCS細胞、CPn細胞)のなかには、スピンドル波やガンマ波にロックして発火するものがあった(図4)。

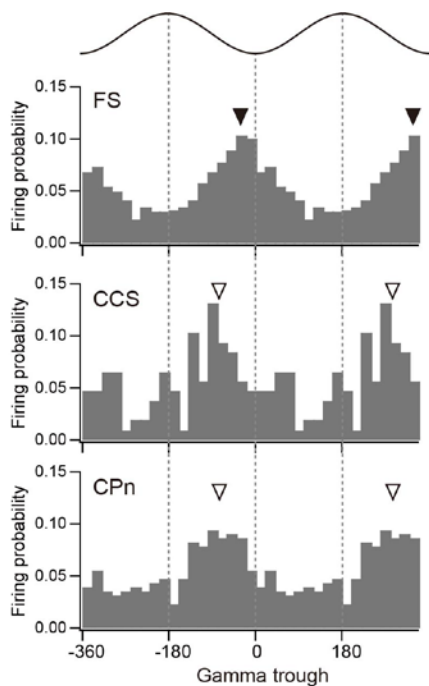


図4 モジュレーションを受けた皮質細胞のガンマ波中のスパイク分布

(3) 皮質5層の細胞をサブタイプに分けて、それぞれの発火時期とガンマ波との関係性を比較したところ、錐体細胞(CCS細胞、CPn細胞)はFS細胞と比べてガンマ波中の早い位相で発火することがわかった(図5)。

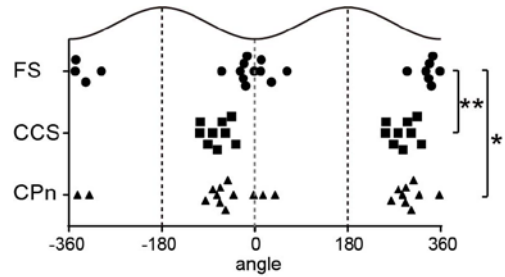


図5 ガンマ波のモジュレーションを受けた細胞の発火位相

(4) さらに、皮質5層をサブレイヤー(5a/5b)に分けて解析した。5b層の細胞を比較すると、ガンマ波中でモジュレーションを受けて発火する細胞の割合は、CCS細胞よりもFS細胞で高いことがわかった(図6)。また、ガンマ波中での発火位相は皮質サブレイヤーならびに細胞サブタイプによって異なることがわかった(図7)。

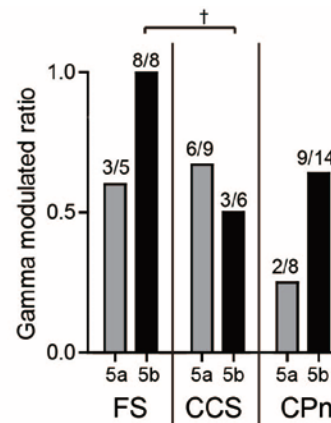


図6 ガンマ波のモジュレーションを受けた細胞の割合

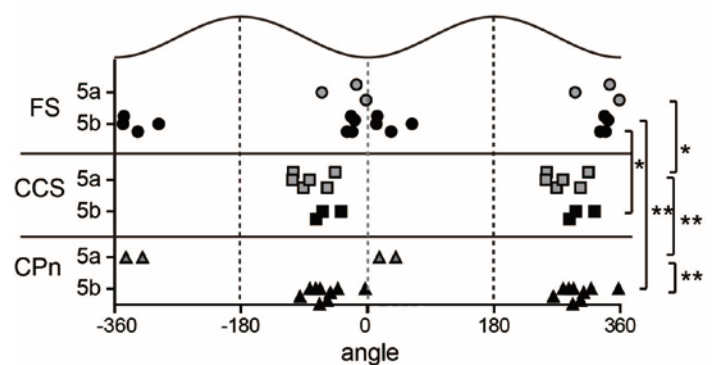


図7 ガンマ波のモジュレーションを受けた細胞の発火位相(5a/5b)

(5) 同様に、スピンドル中の発火活動について皮質 5 層をサブレイヤー(5a/5b)に分けて解析したところ、5b 層でスピンドル波のモジュレーションを受けて発火する細胞の割合は、CCS 細胞よりも FS 細胞で高いことがわかった(図 8)。また、スピンドル波中における 5b 層の FS 細胞の発火位相は、同じ 5b 層の CPn 細胞の発火位相とは有意に異なることがわかった(図 9)。

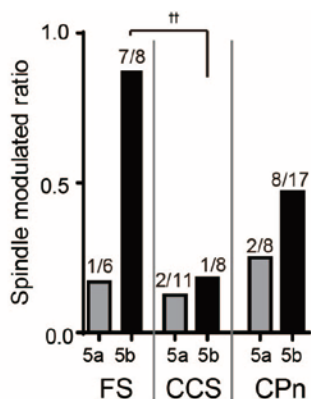


図 8 スピンドル波のモジュレーションを受けた細胞の割合

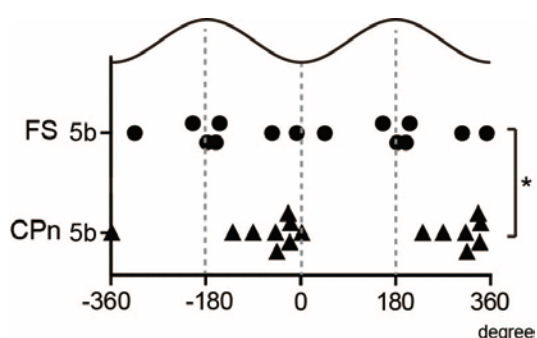


図 9 スピンドル波のモジュレーションを受けた細胞の発火位相

本研究の結果から、皮質細胞のサブタイプ・サブレイヤーに依存してスピンドル振動・ガンマ振動中での発火特性が異なることが示唆された。リズム形成メカニズムの解明は、今後の課題である。

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 1 件)

Ushimaru M, Kawaguchi Y. Temporal Structure of Neuronal Activity among Cortical Neuron Subtypes during Slow Oscillations in Anesthetized Rats. J Neurosci. 2015 Aug 26;35(34):11988-2001. (査読有)

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

牛丸 弥香 (USHIMARU, Mika)
京都大学医学系研究科・特定研究員
研究者番号：90604554

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()