

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 31 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K18358

研究課題名(和文) 嗅内皮質を介した海馬への感覚情報伝達経路 - 最新技術から回路構造を探る

研究課題名(英文) Laminar organization of the entorhinal cortex - Circuit that process sensory information to the hippocampus

研究代表者

大原 慎也 (Ohara, Shinya)

東北大学・生命科学研究科・助教

研究者番号：10570038

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：空間認知や連合記憶を実現する脳情報処理機構を理解する上で、嗅内皮質を中心とした感覚情報伝達経路の構造を明らかにすることは大変重要である。本研究では、様々な神経回路標識法を用いて、これまで見落とされてきた嗅内皮質表層(IIb)、または深層(Vb)ニューロンが形成する局所回路を調べ、これらのニューロンが嗅周囲皮質から海馬への感覚情報伝達経路の一端を担うことを示した。今後、これら嗅内皮質各層が形成する局所回路が相互にどのような情報処理を行なっているのか明らかにすることで、記憶形成機構の理解が大いに深まることが期待される。

研究成果の概要(英文)：The entorhinal cortex, which is the major gateway between the hippocampus and the neocortex, plays an important role in the hippocampus-memory system. In this study we used several tracing techniques and examined the organization of the local circuits of layer IIb and Vb of the lateral entorhinal cortex, which have been overlooked in previous anatomical studies. We have shown that the neurons in these layers are in part of the neural circuits which are known to convey sensory information to the hippocampus. These anatomical data would be important to understand the mechanisms of the hippocampus-memory system in future studies.

研究分野：システム神経科学

キーワード：嗅内皮質 カルビンジン陽性ニューロン

1. 研究開始当初の背景

嗅内皮質は、海馬と皮質領域を繋げる重要な中継領域であり、様々な感覚情報は嗅内皮質を介して海馬へと送られ、統合されることで記憶が形成されると考えられている。しかし、皮質領域からの感覚情報が嗅内皮質のどの層に入力し、どのような嗅内皮質局所回路で処理されて海馬へと伝えられているのか、その回路構造はこれまでブラックボックスとして扱われてきた。空間認知や連合記憶形成のための脳情報処理機構を理解するためには、この嗅内皮質を中心とした感覚情報伝達経路の詳細な回路構造を明らかにする必要がある。しかし、皮質領域(嗅周囲皮質、嗅後部皮質)からの感覚情報が嗅内皮質のどのような局所回路で処理され、海馬へと伝えられているのかについては十分には明らかにされていない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、嗅内皮質を介した嗅周囲皮質(PER)から海馬への感覚情報伝達経路を明らかにすることである。そのため、(1)これまで解剖学的に見落とされてきた嗅内皮質 II 層深層(IIb 層)が形成する神経回路に着目し、その入出力関係を調べる。(2)また、*in vitro* 光計測実験から、PER から海馬への情報伝達においての重要性が指摘されている嗅内皮質深層の回路構成についても明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 嗅内皮質 IIb 層の入出力解析

嗅内皮質 IIb 層ニューロンの出力先を同定するため、逆行性トレーサー(フルオロゴールド)を様々な脳領域に注入し、IIb 層のカルビンジン陽性ニューロンが逆行性標識されるのか調べた。また、IIb 層ニューロンの投射先を同定するため、順行性トレーサー(PHA-L、BDA)の局所注入を行った。

PER から嗅内皮質 IIb 層への入力を調べるため、嗅内皮質と PER を含む脳スライス標本を作製し、PER を電気刺激した際の IIb 層ニューロンの応答をパッチクランプ法により計測した。

(2) 嗅内皮質深層から海馬への投射回路解析

嗅内皮質深層が表層ニューロンを介して海馬に投射するのかを調べるため、逆行性経シナプス性トレーサーである狂犬病ウイルスを海馬へ注入し、Vb 層ニューロンが海馬投射細胞のシナプス前細胞として標識されるのか調べた。

4. 研究成果

(1) 嗅内皮質 IIb 層の入出力解析

IIb 層カルビンジン陽性ニューロンの出力解析
逆行性トレーサーを用いて、外側嗅内(LEC) IIb 層に分布するカルビンジン陽性細胞

(CB+細胞)と内側嗅内皮質(MEC) II 層の CB+細胞の投射先を調べた。その結果、CB+細胞の出力が LEC と MEC で異なることが示された(図 1)。海馬投射においては、LEC の CB+細胞(全 CB+細胞の約 10%)より MEC の CB+細胞(全 CB+細胞の約 20%)の方が有意に多く投射していた。一方、他の皮質領域(腹側前頭前野、扁桃体)へは LEC の CB+細胞が投射しており、MEC の CB+細胞からの投射は確認されなかった。どちらの CB+細胞においても共通していたのが領域内投射であり、約半数は嗅内皮質内に投射していた。このことは、CB+細胞が嗅内皮質の局所回路を構成していることを示唆している。さらに、LEC の IIb 層の領域内投射について順行性トレーサーを用いて調べた結果、IIb 層ニューロンが嗅内皮質表層に軸索を送っていることが示された。

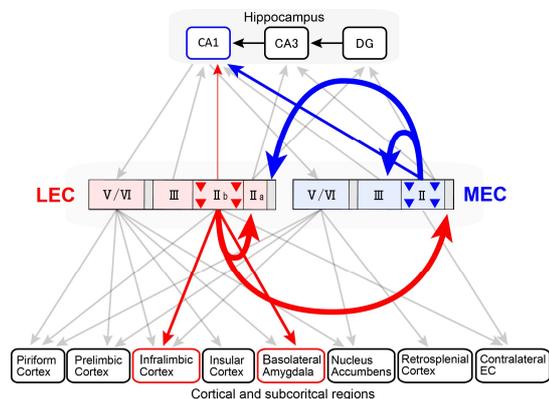


図 1. 嗅内皮質 CB+細胞の出力模式図

PER から嗅内皮質 IIb 層への入力解析

次に、PER から LEC の IIb 層への入力を *in vitro* のスライス実験により調べた。その結果、歯状回に投射する IIa 層ニューロンと共に、IIb 層ニューロンも PER からの直接入力を受けることが示された。

上記の実験から、LEC の IIb 層ニューロンが PER から直接入力を受けるとともに、嗅内皮質表層に II/III 層に領域内投射することが示された。この結果は、LEC の IIb 層 CB+細胞が II/III 層ニューロンを介して PER からの感覚情報を海馬へと伝達していることを示唆している。

(2) 嗅内皮質深層を介した情報伝達経路の同定

海馬-嗅内皮質脳スライス標本を用いた光計測実験から、PER から海馬への情報伝達において嗅内皮質深層が重要な役割を果たすことが報告されている(Koganezawa et al., 2008)。しかし、嗅内皮質から海馬への投射は主に表層(II/III)に起始し、深層(V)からの直接投射は非常に弱い。そこで、嗅内皮質深層から海馬への投射経路を明らかにするため、Ctip2 陽性細胞が分布する LEC の Vb 層が形成する局所回路を調べた。2 つのウ

イルスベクターを用いて Vb 層ニューロンを選択的に標識したところ、Vb 層ニューロンが海馬投射ニューロンが分布する嗅内皮質表層に軸索を伸ばしていることを確認した。また、狂犬病ウイルスベクターを海馬に注入したところ、Vb 層ニューロンが経シナプ的に逆行性標識された。この結果は、Vb 層ニューロンが表層を介して海馬に投射していることを示唆している。PER への順行性トレーサー注入により V 層で標識軸索が確認されたことから、LEC Vb 層ニューロンを介した海馬への入力回路 (Vb - II/III - DG/CA1) が感覚情報伝達に関与していると考えられる。

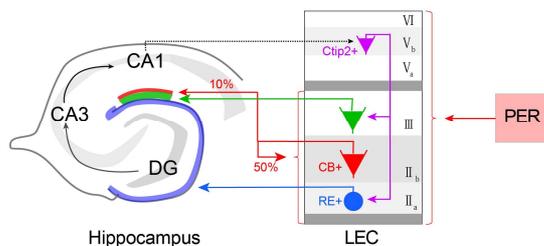


図 2. 外側嗅内皮質を中心とした情報伝達回路模式図

上述した通り、本研究により PER から嗅内皮質への情報伝達経路には、これまで着目されていた嗅内皮質 II 層-歯状回路、嗅内皮質 III 層-CA1 路以外にも嗅内皮質 IIb 層カルビン陽性ニューロン、または Vb 層 Ctip2 陽性ニューロンを介した経路があることが示された (図 2)。今後、これらの嗅内皮質各層が形成する局所回路の相互関係を明らかにすることで、感覚情報処理機構の全容が明らかになることが期待される。

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. Olsen GM., Ohara S., Iijima T., *Witter MP. Parahippocampal and retrosplenial connections of rat posterior parietal cortex. Hippocampus, 査読有, 27(4), 335-358, (2017), doi: 10.1002/hipo.22701.
2. Sato, S., Ohara, S., Tsutsui, KI., *Iijima, T. Effects of G-gene Deletion and Replacement on Rabies Virus Vector Gene Expression. PLoS One, 査読有, 10(5), (2015), doi: 10.1371/journal.pone.0128020.

[学会発表](計 12 件)

1. Ohara S., Itou K., Shiraishi M., Gianatti M., Sota Y., Kabashima S., Onodera M., Tsutsui K-I., Witter, M., Iijima T. Efferent projections of the calbindin-positive

entorhinal neurons in the rat: Connectional differences between the medial and lateral entorhinal cortex. 46th Annual meeting of the Society for Neuroscience, 84.13, 2016/11/12, San Diego Convention Center, San Diego, USA

2. Ishii H., Kaizu Y., Takahashi S., Ohara S., Tobler P., Tsutsui K-I., Iijima T. Decision related activities of anterior insular and orbitofrontal cortex in a gambling behavior of rats. 46th Annual meeting of the Society for Neuroscience, 354.04, 2016/11/14, San Diego Convention Center, San Diego, USA
3. Ohara S., Itou K., Shiraishi M., Gianatti M., Sota Y., Kabashima S., Onodera M., Tsutsui K-I., Witter, M., Iijima T. Connectional differences between calbindin positive neurons in the medial and lateral entorhinal cortex of the rat. The 39th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, P3-201, 2016/7/22, パシフィコ横浜 (神奈川県・横浜市)
4. Onodera M., Ohara S., Shiraishi M., Itou K., Tsutsui K-I., Witter, M., Iijima T. Connectional differences between layer Va and Vb neurons in the lateral entorhinal cortex of the rat. The 39th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, LBA3-023, 2016/7/22, パシフィコ横浜 (神奈川県・横浜市)
5. Ohara, S., Itou, K., Sota, Y., Sato, S., Tsutsui, K-I., Iijima, T., Afferents and Efferents of the Commissural Projection Neurons in Entorhinal Cortex Layer 3 of the Rat. The 38th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, 2P266, 2015/7/30, 神戸国際会議場、神戸国際展示場 (兵庫県・神戸市)
6. Ishii, H., Kaizu, Y., Takahashi, S., Ohara, S., Tobler, N. P., Tsutsui, K-I., Iijima, T., Risky choice selective neuron in rat anterior insular cortex. The 38th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, 2P266, 2015/7/29, 神戸国際会議場、神戸国際展示場 (兵庫県・神戸市)
7. Oyama, K., Tateyama, Y., Lo, CW., Ohara, S., Karube, F., Fujiyama, F., Iijima, T., Tsutsui, K-I., Morphological identification of rat medial prefrontal neurons showing sustained activity during a delay period of a delayed response task by single-neuron electroporation. The 38th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, 2P2666, 2015/7/30, 神戸国際会議場、神戸国際展

示場（兵庫県・神戸市）

8. Ohara S., Ito, K., Sota, Y., Tsutsui, K-I., Witter, P. M., Iijima, T. Cortical and subcortical projections of the entorhinal layer III neurons of the rat. Society for Neuroscience Annual Meeting, 724.22, 2015/10/21, McCormick Place, Chicago, USA
9. Sota, Y., Ohara S., Sato, S., Ito, K., Tsutsui, K-I., Iijima, T. Rabies virus vector with improved transgene expression level for transsynaptic tracing. Society for Neuroscience Annual Meeting, 827.05, 2015/10/21, McCormick Place, Chicago, USA.
10. Ishii, H., Kaizu, Y., Takahashi, S., Ohara S., Tobler, N. P., Tsutsui, K-I., Iijima, T., Comparison of neural representations between rat anterior insular and orbitofrontal cortex in risky decision making. Society for Neuroscience Annual Meeting, 532.04, 2015/10/20, McCormick Place, Chicago, USA
11. Kaizu, Y., Ishii, H., Takahashi, S., Ohara S., Tobler, N. P., Tsutsui, K-I., Iijima, T., Neural responses observed only in a gambling task in the rat anterior insular cortex. Society for Neuroscience Annual Meeting, 532.17, 2015/10/20, McCormick Place, Chicago, USA
12. Oyama, K., Tateyama, Y., Lo, CW., Ohara S., Karube, F., Fujiyama, F., Iijima, T., Tsutsui, K-I., Cytoarchitectonic information of rat medial prefrontal “delay” neurons revealed by single-neuron electroporation. Society for Neuroscience Annual Meeting, 532.13, 2015/10/20, McCormick Place, Chicago, USA

〔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

大原 慎也 (OHARA, Shinya)
東北大学・大学院生命科学研究科・助教
研究者番号：10570038

(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

()