

令和 3 年 5 月 31 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06519

研究課題名(和文)空間認知システムにおける頭部方向情報を処理する神経回路基盤の解明

研究課題名(英文)Elucidation of neural circuit that processes head direction information in spatial cognition.

研究代表者

前島 隆司(Maejima, Takashi)

金沢大学・医学系・准教授

研究者番号：70399319

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):背側被蓋核-外側乳頭体路は、深部感覚と前庭感覚をもとに頭部方向細胞の方位選択性を形成、維持する情報処理過程に寄与すると考えられている。本研究では、この処理過程の解明を目指し、その回路網を構成する神経細胞の接続と電気生理学的性質を取得することを目的とした。実験結果により、背側被蓋核は神経活動の電気的性質と接続する標的細胞が異なる背側と腹側に局在するGABA作動性神経細胞で構成されていることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

頭部方向情報の処理過程を担う、背側被蓋核から外側乳頭体に至る神経回路を構成する神経細胞の接続と機能の一端が明らかになった。ここで得られた知見は哺乳類における空間認知・ナビゲーションシステムの全容解明に寄与すると期待される。また、この経路においてヒスタミン神経に対し直接シナプス入力形成する神経細胞の機能的性質が明らかになり、これにより空間認知機構におけるヒスタミン神経系の機能的役割の解明につながると思われる。

研究成果の概要(英文):The dorsal tegmental nucleus to the lateral mammillary body tract contributes to the information processing that forms and maintains the orientation selectivity of head direction cells. To elucidate the processing mechanism, we studied the connections and electrophysiological properties of the neurons in the circuit. Our experimental results suggest that the dorsal tegmental nucleus is composed of different types of GABAergic neurons that are localized in the dorsal and ventral parts and have distinct electrical properties and its connectivity.

研究分野：神経生理学

キーワード：背側被蓋核 乳頭体 ヒスタミン神経 頭部方向細胞 空間認知

1. 研究開始当初の背景

哺乳類における空間認知・ナビゲーションシステムは、脳内の海馬体と嗅内皮質に中心領域を置く神経回路網によって成り立っている。回路内には脳内地図を作り出す「場所細胞」や「格子細胞」、方位を指し示し脳内コンパスの機能を果たす「頭部方向細胞」などが組み込まれている。このような認知機能を司る大脳皮質・辺縁系の神経活動は、脳の覚醒維持に関わるコリン・モノアミン神経系により機能的な調節が加えられている。その内ヒスタミン神経系は、覚醒、体温調節、エネルギー代謝などの恒常性維持機能に加え、記憶・学習などの高次脳機能にも関与することが知られている。これまで本研究代表者らは、睡眠・覚醒制御機構の観点からヒスタミン神経系の研究を行ってきたが、ヒスタミン神経に対し直接シナプス入力する神経細胞を解析したところ、空間認知に関与する脳領域にその入力神経が存在することを見出し、空間認知機能とヒスタミン神経系との直接的な繋がりを窺う知ることとなった。しかしながら、実際にヒスタミン神経系が空間認知に関与するのか、また、どのような機能的役割を果たしているのか明らかになっていない。

2. 研究の目的

「頭部方向細胞」は、動物の頭部が特定の方位に振れたときに活動を高める細胞で、場所細胞と格子細胞が作り出す脳内地図に対し、方位を指し示す脳内コンパスの機能を果たすと考えられている。「頭部方向細胞」の方位選択性は、環境の背景やランドマーク、匂いなどの外的な (allothetic) 手掛かりによって更新されるが、動物が暗闇や新規の環境において外的な手掛かりが得られない状況でも、その選択性はしばらく維持される。その維持過程には前庭感覚や固有感覚などの内的な (idiothetic) 手掛かりが利用されることが知られている。この内的な手掛かりから、方位選択性を形成・維持する機能を果たす神経回路が、背側被蓋核 (DTN) - 外側乳頭体 (LMN) - 視床前背側核経路であることが個体レベルの研究により示されている。DTN には、頭部運動の角速度に相関して活動を高める細胞が存在し、LMN には頭部角速度に応答する細胞や、頭部の特定の方位に応答する細胞が存在することが報告されている。本研究代表者らが見出した、ヒスタミン神経に対してシナプス入力する神経は、これらの領域に分布していた。しかし、この一連の神経回路網を構成する各中継核における細胞レベル、分子レベルの解析が欠如しており、回路の情報処理過程は以前不明のままである。そこで、本研究では、この頭部方向情報を処理する神経回路基盤の解明を目指し、回路網の各階層における神経細胞について、電気生理学・薬理学・形態学的特質、さらには核内・核間の神経接続などの基礎的な情報を取得することを目的とした。

3. 研究の方法

改変型狂犬病ウイルスを用いた逆行性トランスシナプス標識法により、ヒスタミン神経にシナプス入力する神経細胞を蛍光標識した。ヒスタミン神経特異的に Cre リコンビナーゼを発現する HDC-Cre マウスにおいて、ヒスタミン神経の起始核が存在する視床下部に蛍光蛋白質 GFP の遺伝子を組み込んだ改変型狂犬病ウイルスを感染させた。脳固定切片において、ヒスタミン神経特異的にそのウイルスが初期感染したことを確認し、GFP で標識されたシナプス前細胞を観察した。脳内全領域にわたってシナプス前細胞をマッピングし、一部の細胞は細胞マーカーの抗体染色などにより細胞種の同定を行った。また、Cre+Flp 依存的な逆行性トレース標識法 (cTRIO 法) を行い、一次入力神経のさらに上流の接続細胞の可視化を試みた。さらに、急性の脳スライス標本において蛍光標識された細胞を同定し、全細胞記録により細胞の電気生理学的特性を調べた。本研究期間においては、特に背側被蓋核 (DTN) の細胞に集中して解析を行った。

4. 研究成果

(1) 本研究で用いたヒスタミン神経特異的 Cre 発現マウスの系統では、ヒスタミン神経系の亜核 (E1-E5) のうち、結節乳頭体腹側部の E1 と E2 亜核を中心に改変型狂犬病ウイルスが初期感染した。これに対する入力神経は視索前野、視床下部、乳頭体を中心に存在しており、遠位の複数の脳領域にも確認された (図1) (Saito*, Maejima* et al., J. Neurosci 2018, *equally contribution)。

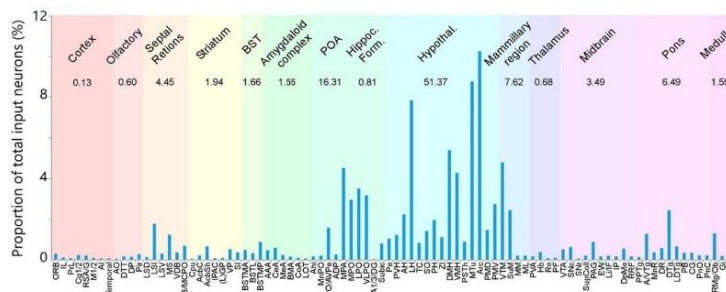


図1. 改変型狂犬病ウイルスによる逆行性標識法で観察されたヒスタミン神経へシナプス入力する神経細胞の脳内分布。

(2) 上記の逆行性トレース法により、背側被蓋核 (DTN) 内の神経細胞が蛍光標識され、DTN から結節乳頭体核のヒスタミン神経にシナプス入力形成されていることが確認された。標識された DTN の神経細胞は、核内の腹側部に局在していることが観察された (図 2)。また、DTN 内は GABA 作動性の神経細胞で占められており、ヒスタミン神経にシナプス入力を形成する神経も GABA 作動性であることを組織学的に確認した。

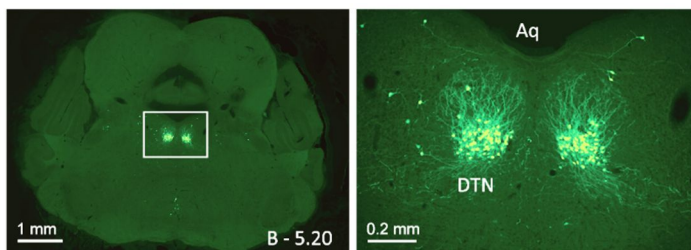


図 2 . ヒスタミン神経に入力する背側被蓋核 (DTN) 神経細胞

(3) 逆行性に蛍光標識された腹側 DTN の神経細胞を脳スライス標本において同定し、全細胞記録により基本的な電気生理学的特性を解析した。電流固定法を行い、入力電流量の増加に比例して活動電位の発火頻度が上昇する特性を持っていることが明らかになった (図 3)。同時に、電位依存性チャンネルの機能発現も解析した。また、高頻度の自発性 GABA 作動性シナプス電流が観測された。

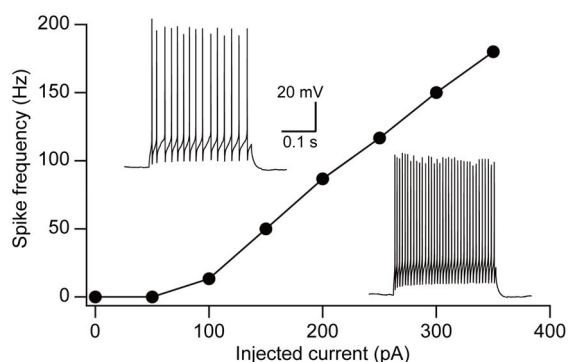


図 3 . 腹側 DTN 神経における注入電流量と発火頻度の関係

さらに、蛍光標識されない DTN 背側部の GABA 細胞についても電気生理学的解析を行ったところ、高頻度で自発発火するという腹側部の細胞とは全く異なる性質も持っていることが分かった。また、この背側部から腹側部の神経に GABA 作動性のシナプス入力があることが示唆された。

(4) 腹側 DTN 細胞にシナプス入力する細胞を探索するため、Cre+Flp 依存的な逆行性トレース標識 (cTRIO 法) を行った。GAD1-Cre マウスにおいて、結節乳頭体核に Cre 依存性 Flp 発現 CAV ベクターを注入し、DTN 細胞の投射線維末端から逆行性に CAV を取り込ませ、さらに DTN において Flp 依存的に改変型狂犬病ウイルスを感染させた。しかしながら、CAV ベクターの取込みが腹側 DTN 細胞に限局されず、背側の細胞にも確認された。つまり、DTN 細胞には、ヒスタミン細胞にシナプス接続しないものの、外側乳頭体へ投射している細胞が存在することが示唆された。このことは、他の逆行性トレーサーによっても確認された。結果的としては、前庭神経核など脳幹部のいくつかの領域で入力神経が確認されたが、この手法では DTN 細胞の種類ごとに特異的な入力細胞を分別することができず、課題が残った。

(5) 光遺伝学的手法を用い DTN 投射線維を特異的に刺激し、結節乳頭体核の神経細胞において GABA 作動性神経伝達が誘導されることを確認した。GAD1-Cre マウスにおいて、Cre 依存性 AAV ベクターを注入し、DTN 細胞にチャンネルロドプシンを発現させた。視床下部のスライス標本において、結節乳頭体核細胞から全細胞記録を行い、DTN 投射線維を光刺激したところ、GABA_A 受容体アンタゴニストで阻害される Cl⁻依存性の電流を観察した (図 4)。

以上、本研究の結果から、DTN は接続標的と神経活動の電気的性質が異なる背側と腹側に局在する GABA 作動性神経で構成されていることが示唆された。

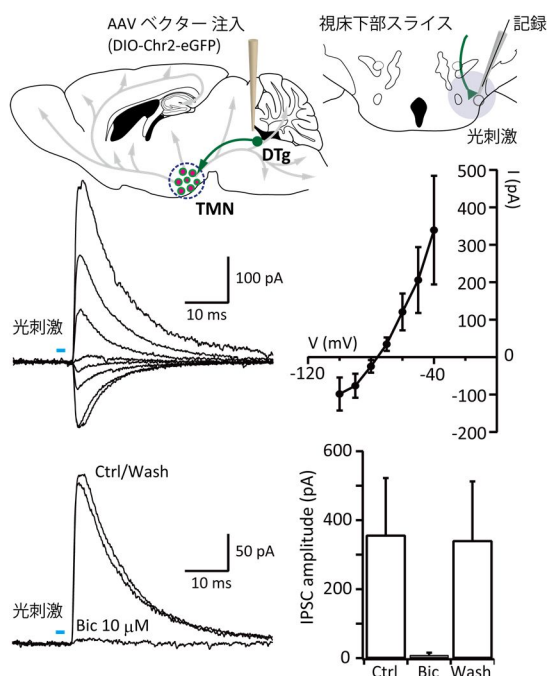


図 4 . DTN 結節乳頭体核 (TMN) 投射の神経線維を光刺激して誘導された GABA 作動性 Cl⁻電流。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Saito Yuki C., Maejima Takashi, Nishitani Mitsuhiro, Hasegawa Emi, Yanagawa Yuchio, Mieda Michihiro, Sakurai Takeshi	4. 巻 38
2. 論文標題 Monoamines Inhibit GABAergic Neurons in Ventrolateral Preoptic Area That Make Direct Synaptic Connections to Hypothalamic Arousal Neurons	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 6366 ~ 6378
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/JNEUROSCI.2835-17.2018	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Mark MD, Wollenweber P, Gesk A, Koesters K, Batzke K, Janoschka C, Maejima T, Han J, Deneris ES, Herlitze S	4. 巻 2
2. 論文標題 RGS2 drives male aggression in mice via the serotonergic system	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 373
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-019-0622-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Zhang T, Yanagida J, Kamii H, Wada S, Domoto M, Sasase H, Deyama S, Takarada T, Hinoi E, Sakimura K, Yamanaka A, Maejima T, Mieda M, Sakurai T, Nishitani N, Nagayasu K, Kaneko S, Minami M, Kaneda K	4. 巻 25
2. 論文標題 Glutamatergic neurons in the medial prefrontal cortex mediate the formation and retrieval of cocaine associated memories in mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Addiction Biology	6. 最初と最後の頁 e12723
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/adb.12723	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Maejima Takashi, Tsuno Yusuke, Miyazaki Shota, Tsuneoka Yousuke, Hasegawa Emi, Islam Md Tarikul, Enoki Ryosuke, Nakamura Takahiro J., Mieda Michihiro	4. 巻 118
2. 論文標題 GABA from vasopressin neurons regulates the time at which suprachiasmatic nucleus molecular clocks enable circadian behavior	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 e2010168118
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2010168118	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 前島隆司、長谷川恵美、津野祐輔、三枝理博
2. 発表標題 AVP神経特異的小胞GABAトランスポーター遺伝子欠損マウスにおける中枢概日時計の解析
3. 学会等名 第25回日本時間生物学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takashi Maejima, Emi Hasegawa, Yusuke Tsuno, Michihiro Mieda
2. 発表標題 Analysis of the central circadian clock in AVP neuron-specific VGAT deficient mice
3. 学会等名 The 9th FAOPS
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------