

令和 4 年 6 月 7 日現在

機関番号：63905

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K14827

研究課題名(和文) 大脳皮質微小カラムの機能形成機構

研究課題名(英文) Developmental regulation of microcolumn

研究代表者

米田 泰輔 (Yoneda, Taisuke)

生理学研究所・基盤神経科学研究領域・特任助教

研究者番号：40709218

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：これまでに我々は大脳皮質5層の特定の神経細胞が微小なカラム状構造(マイクロカラム)を形成し、マイクロカラムは機能相関を示すことを報告した。しかしながら機能相関の形成機構は不明である。本研究では生後4週齢マウスの一次視覚野において、2光子カルシウムイメージングを行い、マイクロカラムを構成する神経細胞が多様な視覚応答選択性を示すことを見出した。これらの結果はマイクロカラムの機能相関が発達に伴って形成されることを示唆する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生後初期のマウスにおける大脳皮質の特異的な神経回路の形成機構には不明な点が多い。本研究によって一次視覚野における細胞タイプ特異的な機能構造の形成機構の一端が明らかになった。マイクロカラムはマウス大脳皮質の運動野、体性感覚野、視覚野と複数の領野にあり、ヒトにおいても報告されている。本研究結果を基にして、大脳皮質共通の回路形成機構が解明されることが期待される。

研究成果の概要(英文)：The neocortex contains diverse neuronal subtypes. Previously we reported a subtype of cortical neurons in layer V forms microcolumns. Microcolumns in the adult mice show a functional correlation of neuronal responses. To reveal whether microcolumns show related functions in the juvenile mice, we performed two-photon calcium imaging at 4 weeks of age. We found neurons in a microcolumn show diverse neuronal responses. These results indicate a developmental regulation of microcolumnar functions.

研究分野：神経科学

キーワード：大脳皮質 マイクロカラム マウス 視覚野 細胞タイプ

### 1. 研究開始当初の背景

感覚や、運動、社会性や言語に関連する機能の習得には、発達初期の経験依存的なプロセスが重要である。視覚システムにおいては生後初期に視機能の上昇と、大脳皮質視覚野の神経回路の再編成が生じる。これまでの研究で経験依存的な回路形成機構に関する数多くの知見が得られた。しかしながら大脳皮質の多様な細胞タイプが、どのように特異的な神経回路を形成するかについては、多くが明らかになっていない。

これまでに我々は、成熟マウス大脳皮質5層において神経回路の解析を行い、5層の主要な興奮性神経細胞である皮質下投射細胞 (subcerebral projection neurons : SCPNs) が、微小なカラム構造(マイクロカラム)を形成し、マイクロカラムを構成する神経細胞が類似した神経活動を示すことを報告した(Maruoka et al., Science 358, 610, 2017)。マイクロカラムは運動野、体性感覚野、視覚野と複数の領野に存在し、ヒトにおいても報告されたことから、大脳皮質における普遍的な機能ユニットであることが示唆される。

### 2. 研究の目的

生後1週齢のマウスにおいて解剖学的なマイクロカラム構造が観察されたことから(Maruoka et al., J Neurosci 31, 18522, 2011)、マイクロカラム構造は生後初期に既に形成されていると考えられる。一方でマイクロカラムの機能的類似性は生後発達に伴って形成されるのか、あるいは生後初期に既に形成されているのかは不明である。本研究では2光子カルシウムイメージングによって生後4週齢マウスの一次視覚野5層の視覚応答を計測し、マイクロカラムの機能相関の形成機構を調べた。

### 3. 研究の方法

ウイルスベクターを用いて1-2週齢マウスの一次視覚野にG-CaMP6を発現誘導し、2光子カルシウムイメージングによって生後4週齢マウスの一次視覚野5層神経細胞の活動を計測した。逆行性トレーサーによって対側半球に投射する神経細胞を標識し、両眼入力が収束する一次視覚野の両眼領域を同定した。SCPNsは、上丘への逆行性トレーサーの注入、またはAbSca/e法を用いた組織透明化によって同定した(図1)。

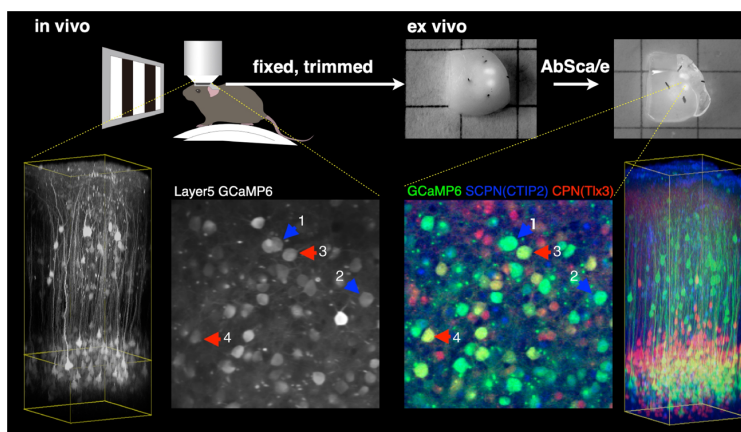


図1. 5層における細胞タイプの同定。CPNが標識された遺伝子改変マウスの一次視覚野5層でin vivo二光子イメージングを行い、細胞の視覚応答を計測した。イメージング後の固定脳標本においてSCPNマーカーであるCTIP2のAbSca/eを行い、in vivo標本と照らし合わせた。細胞1と2はSCPNs、細胞3と4はCPN。

#### 4. 研究成果

生後4週齢マウスの5層において、細胞タイプ特異的な2光子カルシウムイメージング法を確立した。AAVベクターを用いてG-CaMP6を導入したところ、SCPNsに加えて5層の皮質投射細胞(cerebral projection neurons: CPNs)においてGCaMPの発現が観察された。2種の細胞タイプを同定するために、皮質投射細胞に赤色蛍光タンパク質が

発現した遺伝子改変マウスを用いてイメージングを行い、イメージング後にAbSca/e法を用いてSCPNマーカーであるCTIP2の免疫染色を行った。これらの方法論によって、機能計測を行った5層の神経細胞から、2種類の興奮性神経細胞を同定することが可能となった(図1)。マウスの左右のそれぞれの眼に視覚刺激を提示し、神経細胞の相対的な応答強度(眼優位性)を評価した。マイクロカラムを構成する神経細胞が類似した眼優位性を示す成熟マウスとは対照的に(図2B右)、4週齢マウスの細胞は多様な眼優位性を示した(図2A、B左)。これらの結果はマイクロカラムの機能相関が生後発達に伴って形成されることを示唆する。今後は視覚操作を行ったマウスを用いて、マイクロカラムの機能形成に視覚経験が必要かを検証する。

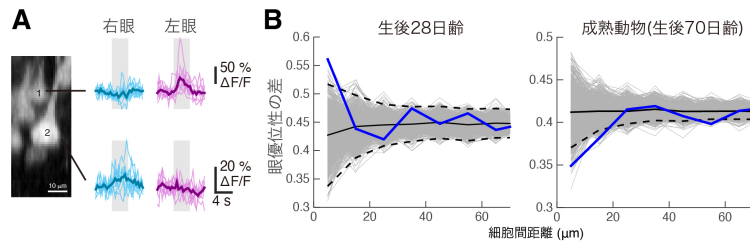


図2. マイクロカラムの機能相関は生後発達に伴って形成される。(A)生後28日齢マウスの左右眼のそれぞれに視覚刺激を提示し、SCPNsの眼優位性を測定した。(B)それぞれのSCPNペアに対し眼優位性の差を計算し、マイクロカラムにと直行する方向の距離に対しての関数としてプロットした。灰色はサロゲートデータ。点線は5%水準。成熟動物ではマイクロカラム内の細胞の眼優位性は類似していた。一方で生後28日齢マウスではマイクロカラムを構成する細胞は多様な眼優位性を示した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 細谷 俊彦、中川 直、米田 泰輔、丸岡 久人	4. 巻 70
2. 論文標題 総説 大脳皮質の単位回路	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 BRAIN and NERVE	6. 最初と最後の頁 1381-1388
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.11477/mf.1416201197	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Yoneda Taisuke, Sakai Seiichiro, Maruoka Hisato, Hosoya Toshihiko	4. 巻 139
2. 論文標題 Large-scale Three-dimensional Imaging of Cellular Organization in the Mouse Neocortex	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Visualized Experiments	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3791/58027	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4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 呉 嘉豪, 米田 泰輔, 吉村 由美子
2. 発表標題 同一神経細胞の麻酔、覚醒下における空間周波数応答特性の変化
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 米田泰輔、吉村由美子
2. 発表標題 マウス視覚野における細胞タイプ特異的な神経回路形成計測法の確立
3. 学会等名 NINS分野融合型共同研究事業ワークショップ『運動・行動から紐解く脳神経回路発達メカニズムの異分野融合研究による解明』
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 米田泰輔、吉村由美子
2. 発表標題 大脳皮質一次視覚野における細胞タイプ特異的な神経回路形成計測法の確立
3. 学会等名 第9回名古屋大学医学系研究科・生理学研究所合同シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 細谷 俊彦, 米田 泰輔, 丸岡 久人
2. 発表標題 大脳新皮質基本モジュール構造の計算モデル
3. 学会等名 第41回日本神経科大会
4. 発表年 2018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