

研究種目：若手研究（B）  
研究期間：2008～2009  
課題番号：20770128  
研究課題名（和文） 視床における同期的神経発火を制御する神経配線基盤の探索  
研究課題名（英文） Exploration of connection rules regulating synchronous firing in the thalamus  
研究代表者  
井上 剛（INOUE TSUYOSHI）  
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授  
研究者番号：40370134

## 研究成果の概要：

本研究課題では、スライスパッチクランプ法による「神経細胞」の記録と、ダイナミッククランプ法による「人工シナプス」を組み合わせ、「ハイブリッド神経回路」を構築し、視床リレー細胞が有する同期的神経発火の発生メカニズムに関して研究した。その結果、網様体細胞からの抑制入力と末梢からの興奮入力に関するシナプス配線の存在パターンに依存して、同期的神経発火の「強さ」と「質」が制御されていることが明らかとなった。

## 交付額：

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2009年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野： 生物学

科研費の分科・細目： 生物化学・生物物理学

キーワード： 視床、神経回路、シナプス配線、同期発火、ダイナミッククランプ

## 1. 研究開始当初の背景

視覚・聴覚・体性感覚などの感覚入力は、視床リレー細胞を経由し、大脳皮質へと運ばれる。視床リレー細胞群の発火はしばしば同期するが、その機能的役割は不明であった。2006年に Bert Sakmann のグループにより、単一のリレー細胞が大

脳皮質細胞に与える興奮性効果は小さいが、複数のリレー細胞の同期発火が大脳皮質細胞を効果的に興奮させるという、直接的な証拠が示された。すなわち、視床における同期的発火は、視床—大脳皮質間の効率的な信号伝達を可能にする。

報告者はこれまで、新しいタイプの視床—大脳皮質間の信号伝達を明らかにして

いた。報告者はまず、その神経経路において、収束結合と発散結合が組み合わさった特徴的なフィードフォワード抑制回路が存在することを明らかにし、さらにこのフィードフォワード抑制回路の状態に応じて、異なる種類の同期的神経発火 (coincident firing と time-lagged firing) のどちらかが選択的に大脳皮質へと転送されることを明らかにした。

これらの成果は、視床—大脳皮質間の効率的な信号伝達に、2種類の同期的神経発火が必要であることを示している。しかしながら、(1) そもそも2種類の同期的発火が視床リレー細胞群で発生しうるのか、(2) 発生する場合、どのような神経回路配線が必要とされるのか、に関しては未だ解明されていない。このような神経配線パターンと同期発火発生の関係を探るには、研究者側で神経配線パターンを任意に操作することのできる実験手法が必要とされる。

## 2. 研究の目的

本研究では、2種類の同期的発火がどのような神経配線基盤上で生じるのか、その構造—機能連関に取り組む。具体的には、マウス体性感覚に関わる視床 (ventrobasal thalamus) において、(1) 新規な神経配線パターンを探索し、(2) 次にその同定された神経配線パターンが、同期的神経発火の発生にどのように寄与しているのか網羅的に検索する。

視床神経回路は、視床リレー細胞と網様体細胞で構成される。本研究では、発散性 (1つの細胞がどのように複数の細胞に投射するか) と収束性 (複数の細胞がどのように1つの細胞に投射するか) に特に注目して研究を行う。これらの神経配線パターンは同期的神経発火の形成に重要であると考えられるが、視床神経回

路においてあまり報告がない。本研究では、これらのシナプス配線図を重点的に考慮し、同期的神経発火の神経配線基盤を探索する。

本研究を遂行するにあたり、4—5細胞からの同時パッチクランプ記録にダイナミッククランプ法を併用する予定である。ダイナミッククランプ法を用いると、実際のシナプス電流に酷似した人工シナプス電流を、標的とした細胞間に発生させることができる。多細胞パッチクランプ記録にこのダイナミッククランプ法を適用すると、神経細胞間のシナプス配線を任意に操作することが可能となる。このハイブリッド神経回路を利用し、同期的神経発火の神経配線基盤を探索する。

## 3. 研究の方法

視床神経回路は、視床リレー細胞と網様体細胞で構成されている。本研究では、視床リレー細胞群における同期的神経発火を制御する神経配線基盤を探索する。具体的には、[1] まず視床神経回路内における新規な神経配線パターンを、多細胞パッチクランプ記録を用いて明らかにし、[2] 次にその神経配線が同期的神経発火の発生にどのように寄与するかを、ハイブリッド神経回路 (多細胞からの記録+ダイナミッククランプ法による人工シナプス) を用いて検討する。

具体的に調べる神経配線パターンに関して、以下2つの神経回路に関して検討する。1つ目の神経配線パターンとして、1つの網様体細胞と複数の視床リレー細胞で構成される神経回路 (一対多回路) に関し、構造—機能連関を検討する。2つ目の神経配線パターンとして、複数の網様体細胞と複数の視床リレー細胞で構成される神経回路 (多対多回路) に関し、構造—機能連関を検討する。ハイブリッド神経回路の利点を生かし、神経回路内のシナプス配線を任意に操作することにより、どのような神経回路配線が同期的

神経発火の発生に重要なのかを検討する。

#### 4. 研究成果

まず最初に、マウス体性感覚領域における視床のスライス標本を用い、網様体細胞から視床リレー細胞へのシナプス配線に関して検討した。視床リレー細胞からのトリプルパッチクランプ記録に、網様体細胞の単一繊維刺激を組み合わせるにより、近接した視床リレー細胞群は単一の網様体細胞から発散性の抑制入力を高確率で受けていることを見出した。次に、視床リレー細胞群における同期発火の発生に、この発散性抑制結合がどのように寄与しているのか検討した。結果、この発散性抑制入力は視床リレー細胞群の発火を同期させることはできるが、その程度は弱く、しばしば時間差を持った発火を生じてしまうことが分かった。

そこで次に、スライスパッチクランプ法にダイナミッククランプ法を組み合わせ、「ハイブリッド神経回路」を構築し、神経回路配線の操作を試みた。この実験系を用いて、網様体細胞から視床リレー細胞への発散性抑制結合に加え、視床リレー細胞から網様体細胞へのフィードバック興奮性結合を存在させた結果、より正確な同期発火（時間差の無い同期発火）が発生できることを見出した。さらに最後に、この同期発火が存在する状態で内側毛帯（末梢からの感覚入力を受け取る経路）からのシナプス入力を存在させると、その同期発火が弱められることも明らかとなった。

これらの結果をまとめると、視床リレー細胞群の神経発火の“同期性”は、(1) 網様体細胞からの発散性の抑制シナプス入力によって形成され、(2) 視床リレー細胞から網様体細胞へのフィードバック興奮性シナプス入力によって正確になり、(3) 内側毛帯（感覚経路）からのシナプス入力によって弱められる、

ことが明らかとなった。すなわち、シナプス配線の存在パターンに依存して、同期的神経発火の強さと質が制御されていることが明らかとなった。

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計2件）

① Shiuchi T, Haque MS, Okamoto S, Inoue T, Kageyama H, Lee S, Toda S, Suzuki A, Bachman ES, Kim YB, Sakurai T, Yanagisawa M, Shioda S, Imoto K, Minokoshi Y (2009) Hypothalamic orexin stimulates feeding-associated glucose utilization in skeletal muscle via sympathetic nervous system. *Cell Metab* 10: 466-480.

（査読有）

② Katsu T, Okada S, Imamura T, Komagoe K, Masuda K, Inoue T, Nakao S (2008) Precise size determination of amphotericin B and nystatin channels formed in erythrocyte and liposomal membranes based on osmotic protection experiments. *Anal Sci* 24: 1551-1556. （査読有）

〔学会発表〕（計14件）

① 駒越圭子、亀井里枝、井上剛、山田圭一、奥浩之、松尾一郎、勝孝（2010.3.29）大腸菌外膜の透過性を更新する物質の探索：アミジノ基を2個有する両親媒性物質。第130回日本薬学会（岡山）

② 増田和文、西川宏、駒越圭子、井上剛、勝孝（2010.3.29）ポルフィリン類と合成DNAとの相互作用におけるpHの影響。第130回日本薬学会（岡山）

③ 加藤久登、駒越圭子、井上剛、勝孝（2009.11.7）カチオン性ポルフィリンによる細菌の光不活性化機構。第48回中国四国薬学会（徳島）

④ 亀井里枝、駒越圭子、井上剛、増田和文、山田圭一、奥浩之、松尾一郎、勝孝（2009.11.7）アミジノ基を2コ有する両親

親媒性物質の大腸菌外膜に対する作用。第 48 回中国四国薬学会（徳島）

⑤ 井上剛、勝孝、井本敬二（2009. 11. 1）人工シナプスを用いたハイブリッド神経回路。第 47 回日本生物物理学会年会（徳島）

⑥ 井上剛、勝孝、井本敬二（2009. 9. 16）神経修飾物質でスイッチされるシナプス統合：その細胞メカニズム。第 32 回日本神経科学大会（名古屋）

⑦ 加勢大輔、井上剛、井本敬二（2009. 9. 18）大脳基底核回路は欠神発作のリズム維持に関与する。第 32 回日本神経科学大会（名古屋）

⑧ 井上剛（2009. 9. 3）ダイナミッククランプ法を用いた局所神経回路網の操作。生理学研究所研究会（光を用いた神経活動の操作－操作法開発から神経回路研究への応用－）（岡崎）

⑨ 井上剛（2009. 8. 22）電気生理学を用いた脳神経研究。第 20 回霧島神経薬理フォーラム（霧島）

⑩ 勝孝、岡田志穂、今村友則、駒越圭子、増田和文、井上剛、中尾智志（2009. 3. 27）赤血球およびリポソーム膜中に形成されたポリエーテル抗生物質のチャンネルサイズの定量。第 129 回日本薬学会（京都）

⑪ 駒越圭子、竹内宏明、井上剛、勝孝（2009. 3. 27）酸素電極を用いたスーパーオキシドアニオン消去剤の活性評価。第 129 回日本薬学会（京都）

⑫ 井上剛、井本敬二（2008. 12. 5）フィードフォワード抑制回路に対する神経修飾物質の作用：ダイナミッククランプ法による研究。第 46 回日本生物物理学会年会（福岡）

⑬ 加勢大輔、井上剛、井本敬二（2008. 7. 9）欠神発作リズム形成における大脳基底核の関与。第 31 回日本神経科学大会（東京）

⑭ 井上剛、井本敬二（2008. 7. 9）視床－

大脳皮質間における三種類の信号伝達モード：神経修飾物質による切り替え。第 31 回日本神経科学大会（東京）

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

井上 剛 (INOUE TSUYOSHI)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授

研究者番号：40370134