

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 6月 3日現在

機関番号：63905

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2009～2012

課題番号：21240030

研究課題名（和文）新皮質局所回路と大脳システム回路の統合

研究課題名（英文）Integration of cortical micro- and macro-circuits

研究代表者

川口 泰雄（KAWAGUCHI YASUO）

生理学研究所・大脳皮質機能研究系・教授

研究者番号：40169694

研究成果の概要（和文）：動物は新皮質、特に前頭皮質、と大脳基底核を使って、過去の行動とその結果に基づき、最適と考えられる行動を次に選択する。この過程の理解には前頭皮質がどのような神経細胞からできているか、それらがどのように相互作用するかを知ることが不可欠である。本研究は、前頭皮質から大脳基底核などへ出力を送る細胞の機能的構成とシナプス結合則を明らかにした。この結果から、皮質局所回路が多様な出力に応じたサブネットワークからできていることが分かった。

研究成果の概要（英文）：Using neocortex, especially frontal cortex, and basal ganglia, animals select the most appropriate actions according the past action and its result. To understand this brain process, we should know the neuron composition of the frontal cortex and their synaptic interactions. This research has clarified the functional organization and synaptic connection rules of output cells projecting to the basal ganglia and other subcortical structures. These findings indicate that the neocortical local circuit consists of connection subnetworks organized according to diverse extracortical projections.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	7,600,000	2,280,000	9,880,000
2010年度	8,000,000	2,400,000	10,400,000
2011年度	10,000,000	3,000,000	13,000,000
2012年度	10,000,000	3,000,000	13,000,000
年度			
総計	35,600,000	10,680,000	46,280,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：神経科学・神経科学一般

キーワード：大脳皮質、局所回路、錐体細胞、GABA、シナプス結合、皮質外投射、大脳基底核。

1. 研究開始当初の背景

(1) 新皮質ニューロンの多様性

新皮質ニューロンは興奮性の錐体細胞と抑制性の GABA 作働性非錐体細胞に大きく分けられるが、どちらも更に多様に分化してい

ると考えられる。私たちはこれまで抑制性非錐体細胞の構成を電気生理的・形態・分子的性質を定量解析することで、その基本的構成を同定してきた。一方、新皮質の主要な投射ニューロンである錐体細胞の機能的構成は

殆どわかっていなかった。

(2) シナプス結合則と伝達特性

新皮質の機能を理解するには、多様なニューロン間の結合則を知る必要がある。ニューロンタイプに依存する選択的シナプス結合と、生体の状況に対応して変化するシナプス可塑性を切り分けて、各形成ルールを明らかにする必要がある。しかし、正常では殆ど変更を受けない選択的結合ルールについてはわかっていないことが多かった。タイプによるシナプス伝達機構の多様性もあまり調べられていなかった。

(3) 局所・大域振動の関係

新皮質では多様な振動成分が見られるが、徐波について、新皮質局所で起きるものと、視床からの興奮性入力との相互作用で起きる大域的なものとの関係は不明であった。

2. 研究の目的

- (1) 新皮質 GABA 細胞構成をさらに解析し、その機能的サブタイプを確立する。
 - (2) 新皮質 GABA 細胞の主要なサブタイプである FS 細胞へのセロトニン作用を明らかにする。
 - (3) 新皮質 GABA 細胞サブタイプへの皮質内興奮性入力の特異性を明らかにする。
 - (4) 新皮質深層の錐体細胞構成を明らかにする。
 - (5) 錐体細胞間シナプス伝達特性の多様性を明らかにする。
 - (6) 新皮質で観測される振動への視床の寄与を明らかにする。
- これらの解析を通して、新皮質回路動作をマイクロ・マクロ回路の両面から理解にすることに努める。

3. 研究の方法

- (1) 逆行性トレーサーによる神経軸索投射解析
- (2) 脳切片標本での新皮質細胞からのホールセル記録による内因性電氣的性質とシナプス伝達解析
- (3) タイプを同定したシナプスなど神経微細構造の電子顕微鏡による立体構築
- (4) 麻酔下動物で、傍細胞記録を使って同定した視床・皮質細胞の電気活動解析

4. 研究成果

- (1) 電子顕微鏡像におけるシナプス同定基準の再検討
- これまで用いられてきたシナプス同定基準では、超薄切片面に近い角度に存在するクレフト面を持つシナプス結合は見逃してしまう。この問題点を改善するために以下の方法を導入した。切片面に平行に近い角度のク

レフト面を持つシナプスでも、従来のシナプス結合の同定に使われている同一切片で観察できる構造要素が、順序通りに連続切片で観察できる場合は、それをシナプスと判断できる事を、トモグラフィ解析を組み合わせ確認した。新しい基準で GABA 細胞の樹状突起表面に inputs するシナプス数を測定したところ、およそ 3 分の 1 から半分程度のシナプスを新たに確認することができた。これは、旧来のシナプス同定法だけでは、シナプスの多くを見落としてしまう可能性があることを示している。

(2) 国際共同研究による新皮質 GABA 細胞同定法の確立

GABA 細胞のサブタイプ分類について私たち独自のものと他の研究室のものとの異同を国際共同研究で解析した。今後、抑制性細胞による興奮性サブネットワーク制御を調べるための基礎となる、マルティノティ細胞などの基本的サブタイプ分けの妥当性を確立した。

(3) 新皮質 GABA 細胞へのセロトニン (5HT) 作用

縫線核からの 5HT ばかりでなく、皮質 GABA 細胞一つであるパルブアルブミン (PV) 細胞の変化が精神疾患へ関与することが示唆されている。PV 細胞は皮質ガンマ振動にも関係している。5HT の 1A、2A 受容体はともに一部の PV 細胞に見られたが、両方の受容体を発現する PV 細胞は少なかった。2A 受容体拮抗薬投与で、皮質電場電位のガンマ波が減弱したのに対して、1A タイプの拮抗薬ではその増強が見られた。これらから、ガンマ波がパルブアルブミン細胞の 1A、2A 受容体を介して調節される可能性が明らかになった。

(4) 新皮質 GABA 細胞サブタイプに依存した興奮性経路抑制

新皮質局所回路における多様なサブタイプからなる抑制性細胞と興奮性サブネットワークとの関係はあまり調べられていない。GABA 細胞サブタイプが前頭皮質内の興奮性経路を選択的に抑制するかどうかを見るために、5 層錐体細胞と GABA 細胞サブタイプ間の結合特性をスライス標本で同時ホールセル記録することで、それらへの 2/3 層からの興奮性入力パターンをグルタミン酸刺激法により調べた。5 層 non-FS 細胞と錐体細胞では、その間にシナプス結合があると 2/3 層錐体細胞から共通入力する確率が高くなったのに対して、5 層 FS/錐体細胞ペアに対する 2/3 層錐体細胞からの共通入力確率は 5 層細胞間結合の有無には依存しなかった。以上の結果から、選択的興奮性結合によって作られる錐体細胞サブネットワークの抑制様式は、GABA 細胞サブタイプごとに異なることがわかった。

(5) 交連錐体細胞シナプス結合分化

対側皮質へ投射する錐体細胞（交連細胞）は左右半球の機能的協調を担っている。交連細胞の機能的構成やそれらのサブネットワークを明らかにするために、5層交連細胞の電気的・形態的性質とシナプス入力を解析した。5層交連細胞は、脱分極に対して発火が順応しにくいタイプ(SAタイプ)と順応しやすいもの(FAタイプ)に分かれた。先端樹状突起タフトは、前者の方で発達していた。5層交連細胞は、5層内では同じ発火タイプどうしでよく結合しており、2/3層からのレイヤー間結合では、2/3層細胞の中でも同じ交連細胞からの入力を受けやすかった。5層交連細胞結合の短期可塑性は、シナプス前後細胞のタイプによらず、シナプス強度が強くなると抑圧的になった。対側皮質にも軸索を送る対側線条体投射細胞がFAタイプであることを考えると、交連結合は同側皮質連合投射や皮質下投射が異なる複数のサブネットワークからできていることが分かった。(6) 皮質下投射錐体細胞シナプス伝達の分化

前頭皮質5層から大脳基底核の線条体に投射する、二つの独立した錐体細胞タイプで、レイヤー構造に依存した形態分化、結合確率、相互結合頻度、シナプス伝達強度、短期可塑性を比較検討した。同側線条体と橋核へ投射する錐体細胞(CPn細胞)と両側線条体へ行くもの(CCS細胞)を、それぞれ橋核と対側線条体への逆行性トレーサー注入で蛍光標識して同定した。同じタイプ間でのシナプス結合を見ると、CPn細胞でもCCS細胞でもほぼ同じ確率で結合していたが、相互結合はCPn細胞で約3倍多く見られた。シナプス伝達はCPn細胞で強く、特に相互結合するCPn細胞の片方向で非常に大きいシナプス電流が観測された。シナプス伝達の短期可塑性では、CPn細胞では促進が、CCS細胞では抑圧がよく見られた。前頭皮質5層は、視床入力弱い上部の5a層と、強い下部の5b層という、二つのサブレイヤーに分けられる。樹状突起分枝様式は、錐体細胞タイプ間で違うだけでなく、同じタイプでも細胞体のあるサブレイヤーの間で異なっていた。異なる視床入力がある1層や2/3層での樹状突起分枝様式も、投射タイプ、その5層サブレイヤーグループ間で異なっていた。投射タイプ間のシナプス結合がCCS細胞からCPn細胞という方向性であることを考えあわせると、錐体細胞投射システムは皮質下構造への投射の仕方と視床入力の受け方で機能的に異なる出力チャンネルを形成し、チャンネル内部やチャンネル間を流れる信号は、シナプス結合・伝達特性が特異的に組織化された回路網を通ると考えられる。

(7) 新皮質徐波における視床ニューロン発火様式

多様な皮質ニューロンと視床核との関係を明らかにするために、皮質・視床の相互作用で起きるUp・Down振動、スピンドル振動での発火様式を調べている。麻酔下動物で局所電場電位から同定した振動とニューロン発火の関係を視床核ごとに解析し、さらに前頭皮質錐体細胞とも比較検討している。これまでに、Upやスピンドル振動への関与が皮質投射様式が異なる視床核で異なることを見つけた。視床では機能が大きく異なると思われる3つの核から記録を行った：(a) 基底核から入力を受け、前頭皮質1層へ多く投射するVA/VM核、(b) 小脳から入力を受け、主に2/3層へ投射するVL核、(c) 視床内投射するGABA作働性の網様核。その結果、以下のことが分かった。(1) 視床細胞は、視床へ投射する錐体細胞よりUp内時期選択的に発火する。(2) 特に、VA/VM核や網様核にはUp開始付近で選択的に発火するものがある。視床細胞の中にUp開始に先行して発火するものがあることから、大脳皮質Up状態を起動する機構は皮質局所回路だけでなく、視床回路にも存在するかもしれない。

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16件)

- ① DeFelipe J, Lopez-Cruz PL, Kawaguchi Y, (20番目) Kisvarday Z, Kubota Y (22番目), New insights into the classification and nomenclature of cortical GABAergic interneurons, Nature Reviews Neuroscience, 査読有, 2013, 14, pp.202-216, DOI:10.1038/nrn3444
- ② Morita K, Morishima M, Sakai K, Kawaguchi Y, Reinforcement learning: computing the temporal difference of values via distinct corticostriatal pathways, Trends in Neuroscience, 査読有, 35, 2012, pp.457-467, DOI:10.1016/j.tins.2012.04.009
- ③ 川口泰雄, 大脳皮質層構造と錐体細胞へのアセチルコリン作用, Clinical Neuroscience, 30巻, 2012, pp.645-648
- ④ 川口泰雄, 新皮質における抑制性ニューロン, Clinical Neuroscience, 30巻, 2012, pp.1388-1390
- ⑤ Kubota Y, Shigematsu N, Karube F, Sekigawa A, Kato S, Yamaguchi N, Hirai Y, Morishima M, Kawaguchi Y, Selective coexpression of multiple chemical markers defines discrete

- populations of neocortical GABAergic neurons, *Cerebral Cortex*, 査読有, 21(8), 2012, pp. 1803-1817, DOI:10.1093/cercor/bhq252
- ⑥ Ushimaru M, Ueta Y, Kawaguchi Y, Differentiated participation of thalamocortical subnetworks in slow/spindle waves and desynchronization, *J Neurosci*, 査読有, 32, 2012, pp. 1730-1746, DOI:10.1523/JNEUROSCI.4883-11
- ⑦ Hirai Y, Morishima M, Karube F, Kawaguchi Y, Specialized cortical subnetworks differentially connect frontal cortex to parahippocampal areas, *J Neurosci*, 査読有, 32, 2012, pp. 1898-1913, DOI:10.1523/JNEUROSCI.2810-11
- ⑧ Morishima M, Morita K, Kubota Y, Kawaguchi Y, Highly Differentiated Projection-Specific Cortical Subnetworks, *J Neurosci*, 査読有, 31(28), 2011, pp. 10380-10391, DOI:10.1523/JNEUROSCI.0772-11
- ⑨ Kubota Y, Karube F, Nomura M, Gullledge AT, Mochizuki A, Schertel A and Kawaguchi Y, Conserved properties of dendritic trees in four cortical interneuron subtypes. *Scientific Reports*, 1, Article number: 89, 2011, DOI:10.1038/srep00089
- ⑩ Otsuka T, Kawaguchi Y, Cell diversity and connection specificity between callosal projection neurons in the frontal cortex, *J Neurosci*, 査読有, 31(10), 2011, pp. 3862-3870, DOI:10.1523/JNEUROSCI.5795-10.2011
- ⑪ Puig MV, Watakabe A, Ushimaru M, Yamamori T, Kawaguchi Y, Serotonin modulates Fast-Spiking interneuron and synchronous activity in the rat prefrontal cortex through 5-HT1A and 5-HT2A receptors, *J Neurosci*, 査読有, 30, 2010, pp. 2211-2222, DOI:10.1523/JNEUROSCI.3335-09.2010
- ⑫ Otsuka T, Kawaguchi Y, Cortical inhibitory cell types differentially form intralaminar and interlaminar subnetworks with excitatory neurons *J Neurosci*, 査読有, 29, 2009, pp. 10533-10540, DOI:10.1523/JNEUROSCI.2219-09.2009
- [学会発表] (計 48 件)
- ① Kawaguchi Y, Projection-specific subnetworks in rat frontal cortex, *Neuro Informatics2012*, 2012. 9. 10, Munich(Germany)
- ② Ushimaru M, Kawaguchi Y, Firing activities of frontal cortical neuron types in slow wave oscillations and desynchronization, 第 35 回日本神経科学大会, 2012. 9. 20, 名古屋
- ③ Morishima M, Kawaguchi Y, Recurrent network connectivity between excitatory and inhibitory neurons in the layer 5 of frontal cortex, 第 35 回日本神経科学大会, 2012. 9. 19, 名古屋
- ④ Ueta Y, Otsuka T, Kawaguchi Y, Laminar structures and neuron type diversity in frontal cortico-cortical connections, 第 35 回日本神経科学大会, 2012. 9. 19, 名古屋
- ⑤ Kawaguchi Y, Pyramidal cell subnetworks and their GABAergic regulation. EMBO workshop "Cortical interneurons in health and disease, 2012. 6. 24, Mallorca (Spain)
- ⑥ Ueta Y, Kawaguchi Y, Laminar specification of corticocortical and corticospinal neurons in rat motor cortical areas, 2011 Annual Meeting Society For Neuroscience, 2011. 11. 16, Washington DC (USA)
- ⑦ Shigematsu N, Kubota Y, Fukuda T, Kawaguchi Y, Distribution patterns of corticocortical and thalamocortical excitatory inputs onto neocortical neurons in rat frontal cortex, 第 34 回日本神経科学大会, 2011. 9. 16, 横浜
- ⑧ Otsuka T, Kawaguchi Y, Excitatory input patterns to electrically coupled fast spiking cells in cortical circuits, 第 34 回日本神経科学大会, 2011. 9. 16, 横浜
- ⑨ Kawaguchi Y, Neocortical neuron types and local connectivity, Japan-Australia-New Zealand "Building a Functional Brain" Symposium, 2011. 1. 29, Auckland (New Zealand)
- ⑩ Shigematsu N, Kubota Y, Kawaguchi Y, Distribution patterns of cortico-cortical and thalamo-cortical inputs to parvalbumin-expressing GABAergic neurons in rat frontal cortex, 2010 Annual Meeting Society For Neuroscience, 2010. 11. 15, San Diego(USA)
- ⑪ Ushimaru M, Puig V, Kawaguchi Y, Firing properties of neocortical and

- thalamic neurons during slow wave states, 2010 Annual Meeting Society For Neuroscience, 2010. 11. 13, San Diego (USA)
- ⑫ Ueta Y, Kawaguchi Y, Corticospinal and corticocortical projection specificity in rat motor-related areas, 第 33 回日本神経科学大会, 2010. 9. 3, 神戸
- ⑬ Otsuka T, Kawaguchi Y, Cell diversity and connection specificity between callosal projection neurons in the frontal cortex, 第33回日本神経科学大会, 2010. 9. 4, 神戸
- ⑭ Hirai Y, Morishima M, Kawaguchi Y, Local and distal connections of neocortical pyramidal cells projecting to the perirhinal regions, 第 33 回日本神経科学大会, 2010. 9. 4, 神戸
- ⑮ Morishima M, Kawaguchi Y, Extracortical projection dependent dendritic alignment and synaptic transmission of connected pyramidal cells, 2009 Annual Meeting Society For Neuroscience, 2009. 10. 19, Chicago (USA)
- ⑯ Hirai Y, Kawaguchi Y, Local and distant connections of neocortical pyramidal cells projecting to the perirhinal regions, 2009 Annual Meeting Society For Neuroscience, 2009. 10. 19, Chicago (USA)
- ⑰ 川口泰雄, 大脳皮質ニューロンの結合選択性と発火特異性, 第 32 回日本神経科学大会時実賞受賞記念講演, 2009. 9. 16, 名古屋
- ⑱ Morishima M, Kawaguchi Y, Extracortical projection dependent dendritic alignment and synaptic transmission of connected pyramidal cells, 第 32 回日本神経学会科学大会, 2009. 9. 16, 名古屋
- ⑲ Otsuka T, Kawaguchi Y, Inhibitory cell type dependent connection specificity in neocortical circuits, 第 32 回日本神経学会科学大会, 2009. 9. 17, 名古屋
- ⑳ Shigematsu N, Kubota Y, Kawaguchi Y, Distribution patterns of pyramidal and thalamocortical inputs to the parvalbumin-expressing GABAergic neurons in rat frontal cortex, 第 32 回日本神経学会科学大会, 2009. 9. 16, 名古屋
- ㉑ Ushimaru M, Puig V, Kawaguchi Y, Firing time specificity of

thalamocortical and corticothalamic cells in slow wave UP state, 第 32 回日本神経学会科学大会, 2009. 9. 18, 名古屋

- ㉒ Kawaguchi Y, Cortical GABAergic and Pyramidal Cell Subtypes. Gordon Research Conference "Inhibition In The CNS", 2009. 7. 28, Waterville (USA)

〔図書〕 (計 3 件)

- ① Isa T, Imoto K, Kawaguchi Y, Slice patch clamp, In Patch Clamp Techniques (ed Okada Y), 2012, pp 121-135, Springer, Tokyo
- ② 伊佐 正, 井本敬二, 川口泰雄, スライスパッチクランプ法. "最新パッチクランプ実験技術法", 吉岡出版, 2011, pp. 86-95
- ③ 川口泰雄, 大脳皮質内興奮性回路の機能分化. "ブレインサイエンスレビュー 2009", 伊藤正男, 川合述史 編), 2009, pp. 181-205

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.nips.ac.jp/circuit/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

川口 泰雄 (KAWAGUCHI YASUO)

生理学研究所・大脳皮質機能研究系・教授
研究者番号：4 0 1 6 9 6 9 4

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者

高田 (森島) 美絵子 (TAKADA MIEKO)

生理学研究所・大脳皮質機能研究系・助教
研究者番号：3 0 4 3 5 5 3 1

窪田 芳之 (KUBOTA YOSHIYUKI)

生理学研究所・大脳皮質機能研究系・
准教授

研究者番号：9 0 1 9 2 5 6 7