

機関番号：32651

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2009～2010

課題番号：21800056

研究課題名（和文） 大脳と小脳を中継する橋核における神経信号処理のメカニズム

研究課題名（英文） The mechanism of neural processing in the pontine nuclei that link the cerebrum to the cerebellum

研究代表者

石川 太郎 (ISHIKAWA TARO)

東京慈恵会医科大学・医学部・講師

研究者番号：50547916

研究成果の概要（和文）：

脳幹の橋核と三叉神経核に存在する苔状線維投射細胞の活動電位発火頻度を調べた。脳スライス標本において、いずれの部位の投射細胞も最大頻度 500 Hz を超える高頻度発火を示さなかった。この所見は、麻酔下 *in vivo* 動物の苔状線維から記録された高頻度発火と異なるものであった。このため、*in vivo* 標本においては細胞興奮性を亢進させる機序が働いていることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：

The frequency of action potential firing of mossy-fiber projecting neurons in the pontine nuclei and the trigeminal nuclei were investigated. In the slice preparation, neither the pontine cells nor trigeminal cells showed high-frequency firings exceeding 500 Hz. This finding was in striking contrast to the high-frequency firing of mossy fibers that had been observed in anaesthetized animals *in vivo*. Therefore, it is suggested that, in the *in vivo* preparation, a mechanism that enhances cellular excitability might have a significant effect.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,070,000	321,000	1,391,000
2010年度	970,000	291,000	1,261,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,040,000	612,000	2,652,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：脳神経科学, 神経・筋肉生理学

キーワード：神経科学, 生理学, 薬理学, 脳・神経

1. 研究開始当初の背景

研究代表者らによる過去の研究により、麻酔下ラットの顔面（ヒゲを含む）に触覚刺激を与えた際に、小脳の苔状線維が非常に高頻度の活動電位発火（最大瞬間 500 Hz 以上）

を示すことが知られていた。苔状線維は小脳皮質への主要な入力線維であり、脳幹や脊髄の多くの部位から起始しているが、顔面部の触覚信号の伝達を担う線維は橋核もしくは三叉神経核から起始していることが知られ

ていた。橋核の細胞は脳皮質の体性感覚野からの信号を中継して小脳へ投射している。一方で、三叉神経核は末梢の感覚信号を直接小脳に送っていると考えられている。しかし、橋核細胞と三叉神経核細胞のいずれが、上述のような高頻度発火を生成し小脳に送っているのかは知られていなかった。

実験開始当初においては、三叉神経核よりも橋核が高頻度発火苔状線維の起始核である可能性が高いと考えられていた。これは、小脳苔状線維および小脳顆粒細胞で記録される触覚応答は潜時（刺激開始から応答までの時間）が比較的長いため、直接的信号よりむしろ脳皮質を経由した信号であると考えられていたためである。しかし、応答の潜時は、実験条件の些細な変化に影響されることもあり、信号経路の推定に必ずしも役立つものではなかった。このため、橋核と三叉神経核の両方を対象として研究を行った。

2. 研究の目的

小脳に苔状線維を投射している、橋核細胞および三叉神経核細胞の最大発火頻度を実験的に求め、高頻度発火を生成している細胞群を同定することを当初の目的とした。また、このような高頻度発火の生理学的意義を探索することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 逆行性トレーサーの注入

これまでの研究で触覚刺激により高頻度発火を示す苔状線維は小脳皮質の crus I 及び crus II 領域に見られたため、この領域に投射している苔状線維の起始細胞を同定するために、逆行性トレーサーによる標識を行った。ケタミン・キシラジン混合剤により麻酔された生後 12-15 日のラットの小脳皮質 crus I 及び crus II 領域にガラス電極を用いて蛍

光マイクロビーズ (FluoSpheres, Molecular Probes, 200 nL) を注入した。注入後、2～3 日間を経て、下記の記録を行った。

(2) 電気生理学的記録

逆行性トレーサーによる標識が完了したラットを麻酔下に断頭し、脳幹のスライス標本（厚さ 200 μ m）を作製した。顕微鏡下に脳幹スライス標本を観察し、逆行性トレーサーにより細胞質が標識された細胞を同定した。これらの細胞からホールセルパッチクランプ記録を行った。また、標識されなかった細胞からも記録を行い、標識された細胞と比較した。

4. 研究成果

(1) 小脳前核の同定

逆行性トレーサーによる標識により小脳 crus I 及び crus II 領域に投射線維を送っている起始核の細胞が同定された。このうち、下オリーブ核は苔状線維ではなく登上線維を投射している核であることはよく知られている事実である。苔状線維の起始核として橋核には非常に多くの細胞が標識された。三叉神経核（特に三叉神経主知覚核及び三叉神経脊髄路核中間亜核）にも比較的多くの細胞が標識された。その他の橋延髄網様体にも若干の標識細胞が同定された。これらの標識は、すでに解剖学的に知られていた事実と一致していた。

(2) 細胞膜の基本的な電気生理学的特性

各細胞の、静止膜電位、活動電位の振幅、活動電位の閾値、活動電位の半値巾、膜時定数、膜入力抵抗を計測し、橋核細胞群と三叉神経核細胞群を比較した（図 1）。静止膜電位は、橋核細胞と比較して、三叉神経核細胞は脱分極傾向にあり、この差は統計的に有意であった。これに伴い、活動電位の振幅は橋

核細胞の方が大きい傾向にあり、統計的有意差が得られた。閾値電位及びその他の指標に差が見られなかったことから、三叉神経核の細胞の方が閾値に到達しやすく、小さな脱分極で活動電位を発火できると考えられる。しかし、この事実のみからでは、高頻度発火のしやすさについては分からない。

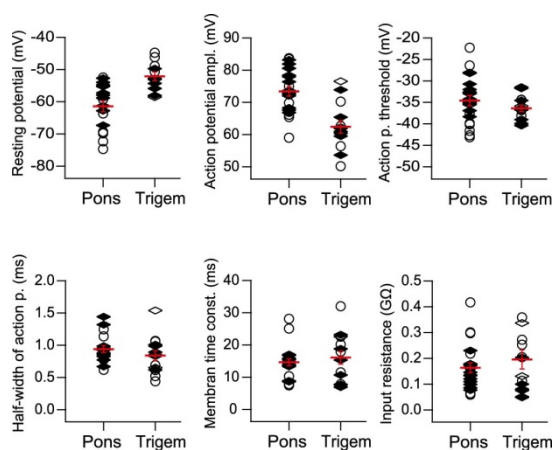


図1 基本的膜特性の比較

(3) 橋核細胞の最大発火頻度

橋核細胞に脱分極電流を与え、活動電位を惹起し、活動電位の最大瞬間頻度を解析した(図2)。

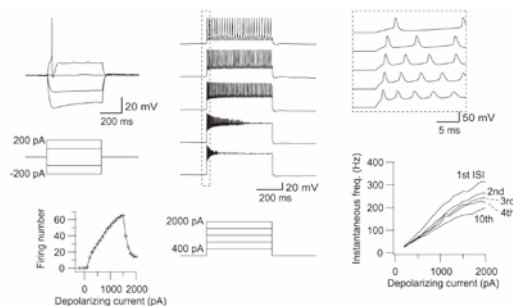


図2 橋核細胞の発火様式

その結果、刺激直後の第1-第2活動電位間の瞬間頻度が最大となり、殆どの細胞で200Hzを超える最大瞬間発火頻度が得られた。14個の細胞の平均は 254 ± 12 Hz(平均 ± 標準誤差)であり、もっとも高頻度を示した細胞では314 Hzであった。また、脱分極電

流として矩形波ではなくシナプス電流の波形を用いた場合にも、ほぼ同様の結果が得られた。この結果は、in vitro 橋核細胞の瞬間発火頻度は、麻酔下 in vivo 動物の苔状線維での500Hzを超える瞬間発火頻度とは一致しない事を示していた。

(4) 三叉神経核細胞の最大発火頻度

三叉神経核細胞についても、同様の実験において最大瞬間発火頻度を計測した(図3)。14個の細胞の平均は 256 ± 23 Hz(平均 ± 標準誤差)であり、もっとも高頻度を示した細胞では413 Hzであった。この結果から、三叉神経核細胞の瞬間発火頻度も麻酔下 in vivo 動物の苔状線維での500Hzを超える瞬間発火頻度とは一致しない事を示していた。

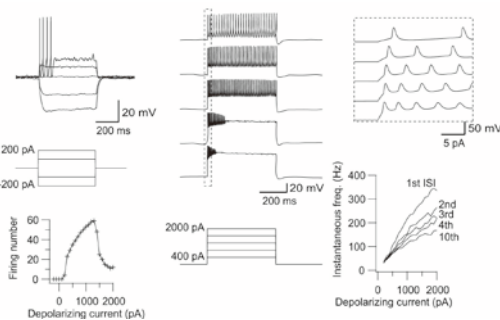


図3 三叉神経核細胞の発火様式

(5) 橋核と三叉神経核の比較

上述の結果において、in vitro スライス標本における橋核細胞と三叉神経核細胞は、ほぼ同じ最大瞬間発火頻度を示し、いずれの核の細胞の最大瞬間発火頻度も500Hzに達しないことが示された(図4)。このことは、いずれの核の細胞も、麻酔下 in vivo 動物の苔状線維の起始細胞とは特定できないことを意味している。しかし、解剖学的事実から、これらの苔状線維が他の細胞核から起始している可能性は非常に低い。従って、in vivo の動物の橋核細胞もしくは三叉神経核細胞は、in vitro のこれらの細胞に比べて、膜の

興奮性が亢進しており、最大瞬間発火頻度が上昇している可能性が示唆される。今後は、in vivo の動物からの記録により、in vitro との違いを明らかにする必要がある。

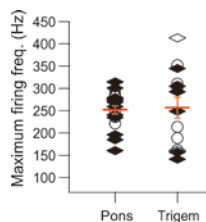


図4 最大瞬間発火頻度の比較

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)

[学会発表] (計3件)

- ① Shimuta M, Ishikawa T, Hausser M. Multisensory interactions in single cerebellar granule cells in vivo. 第36回国際生理学会世界大会. 京都, 2009年7月27日-8月1日
- ② Ishikawa T, Shimuta M, Hausser M. Multisensory signals in single cerebellar granule cells in vivo. 第32回日本神経科学大会. 名古屋, 2009年9月16-18日
- ③ Ishikawa T, Shimuta M, Li WB. The origin of high-frequency firing pattern of the cerebellar mossy fibers. 第34回日本神経科学大会. 横浜, 2011年9月14-17日

[その他]

ホームページ等

http://www.jikei.ac.jp/academic/course/08_yakuri.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石川 太郎 (ISHIKAWA TARO)

東京慈恵会医科大学・医学部・講師

研究者番号：50547916

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし