

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年5月31日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2012

課題番号：23700404

研究課題名（和文） 2光子励起イメージングによる覚醒脳神経回路網の解析

研究課題名（英文） The analysis of cortical circuit in the awakening brain.

研究代表者

惣谷 和広 (SOHYA KAZUHIRO)

独立行政法人理化学研究所・大脳皮質回路可塑性研究チーム・研究員

研究者番号：80415207

研究成果の概要（和文）：

本研究では、抑制性ニューロンにだけ黄色蛍光たんぱく質を発現する遺伝子改変ラット:VGAT-Venusラットもしくは遺伝子改変マウス:VGAT-Venusマウスを用いた *in vivo* 二光子励起機能的カルシウムイメージング法を覚醒下の大脳視覚野の脳機能イメージングに適用し、覚醒下と麻酔下における大脳皮質一次視覚野で、興奮性ニューロンと抑制性ニューロンの光反応性の違いについて解析を行った。

研究成果の概要（英文）：

In this study, I applied *in vivo* two-photon functional calcium imaging of VGAT-Venus transgenic rats/mice, in which GABAergic neurons express Venus, a yellow fluorescent protein to the unanesthetized condition. And I analyzed the difference visual response properties between excitatory and inhibitory neurons in the awakening brain function

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：脳神経科学・神経科学一般

キーワード：(1)二光子レーザー走査型顕微鏡(2)カルシウムイメージング(3)大脳皮質視覚野(4)方位（傾き）選択性(5) *in vivo*(6)光反応(7)蛍光タンパク質(8)GABAergic Neuron(抑制性神経細胞)

1. 研究開始当初の背景

大脳皮質神経回路網は、大きく別けて、興奮性ニューロン、抑制性ニューロン、グリア細胞の3種類の細胞から成り立っている。

この中でも抑制性ニューロンは、大脳皮質神経回路網の活動を単純に抑制するだけでなく、興奮性ニューロンの活動のタイミングを就職することによって、特徴選択的な視覚情報処理機構や生後発達初期の眼優位可塑性の機能発現に大きな役割を果たしていることが示唆されている。

しかしながら、興奮性ニューロンと抑制性ニューロンの活動を多数に同時に記録して、直接的に解析することが困難であった。

近年、大脳皮質神経回路網の活動計測方法の発展によって、今まで困難だった抑制性ニューロンと興奮性ニューロンの活動の同時計測が可能となってきた。また、大脳視覚野神経回路網の機能に抑制性ニューロンが大きな役割を果たしていることが示唆されているが、具体的に、抑制性神経細胞のどのような機能が何の役割を担っているのか、その詳細は未だ明らかになっていない。さらに、覚醒下と麻酔下では、大脳皮質神経回路網の抑制性ニューロンの活動に違いがあることが示唆されているが、その機能については明らかになっていない。

2. 研究の目的

眠気や注意といった脳の内部状態は、覚醒脳の機能に大きく影響を与えることが知られており、さらにこれらは脳の可塑性にも大きく作用することが知られている。しかしながら、それらの作用機序やそれによって影響を受ける大脳皮質神経回路網の活動変化などについては、大脳皮質神経回路網内の空間的な構造と機能の関係性をもとに研究を行った報告はない。さらに最近になって、脳の内部状態に変化に抑制性ニューロンの活動が関与することからも、覚醒の大脳皮質神経回路網の動作制御機構を明らかにするためには、興奮性ニューロンと抑制性ニューロンの活動を同時に、麻酔下と覚醒下で計測し、比較解析する必要がある。

そこで、本研究は、*in vivo* 二光子励起機能的カルシウムイメージング法を覚醒下のマウス大脳視覚野の脳機能イメージングに適用し、覚醒下と麻酔下での大脳皮質神経回路網内の興奮性と抑制性ニューロンの活動を同時にイメージングすることによって覚醒下の脳機能の解明を目指すものである。

3. 研究の方法

抑制性ニューロンにだけ黄色蛍光たんぱく質を発現する遺伝子改変ラット:VGAT-Venus ラットもしくは遺伝子改変マ

ウス:VGAT-Venus マウスを用いた *in vivo* 二光子励起機能的カルシウムイメージング法を覚醒下の大脳視覚野に適用し、覚醒下と麻酔下における興奮性ニューロンと抑制性ニューロンの光反応を解析する。

具体的には、まず、計測動物を麻酔下の状態で視覚応答反応を計測する。次に計測動物を覚醒させ、脳波が覚醒状態になったことを確認した上で、視覚応答反応を計測する。そして解析には、興奮性ニューロンと抑制性ニューロンの反応の大きさや同期性、タイミングやその頻度を詳細に解析し、麻酔下の大脳皮質神経回路網動態と覚醒下の大脳皮質神経回路網動態の違いを見出すことによって、その作用メカニズムを探る。

4. 研究成果

覚醒下の大脳視覚野 2/3 層のニューロン群の *in vivo* 二光子励起機能的カルシウムイメージング法によって、覚醒下と麻酔下における興奮性ニューロンと抑制性ニューロンの光反応性の違いについて解析を行った。その結果、覚醒下と麻酔下では、興奮性ニューロンと抑制性ニューロンで、活動の同期性に違いが見られた。また、活動の大きさにも違いが見られ、麻酔下では反応が見られないニューロンも覚醒することによって反応性が高まることがわかった。これらの知見より、抑制性ニューロンが興奮性ニューロンの活動のタイミングや活動の大きさを修飾することによって、覚醒時の大脳皮質神経回路網の動作制御を行っているのではないかということが示唆された。そのメカニズムの詳細を現在解析した。現在、論文投稿準備を進めている。

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3件)

① Reciprocal Homosynaptic and Heterosynaptic Long-Term Plasticity of Corticogeniculate Projection Neurons in Layer VI of the Mouse Visual Cortex.

Arami MK, Sohya K, Sarihi A, Jiang B, Yanagawa Y, Tsumoto T. The Journal of Neuroscience 2013(33) P7787-7798

査読有り

② Cell type-specific, presynaptic LTP of inhibitory synapses on fast-spiking GABAergic neurons in the mouse visual cortex.

Sarihi A, Mirnajafi-Zadeh J, Jiang B, Sohya K, Safari MS, Arami MK, Yanagawa Y,

Tsumoto T. The Journal of Neuroscience
2012(32) P13189-13199
査読有り

③Selective control of inhibitory synapse
development by Slitrk3-PTP δ
trans-synaptic interaction.

Takahashi H, Katayama K, Sohya K, Miyamoto
H, Prasad T, Matsumoto Y, Ota M, Yasuda H,
Tsumoto T, Aruga J, Craig AM. Nature
Neuroscience 2012(15) P389-398
査読有り

〔学会発表〕(計7件)

① Long-term synaptic plasticity at
cortico-geniculate projection neurons in
layer VI of the mouse visual cortex.

Masoumeh kourosh Arami, Abdolrahman
Sarihi, Bin Jiang, Kazuhiro Sohya,
Shu-Ting Yin, Tadaharu Tsumoto
The 35th Annual Meeting of the Japan
Neuroscience Society, 2012/09/21, P4-b15,
Nagoya, Japan

② Comparison of neural activity in the
visual cortex of rats between in awake and
anesthetized conditions by two-photon
functional imaging.

Rui Kimura, Kazuhiro Sohya, Hirofumi Ozeki,
Teppe Ebina, Yuchio Yanagawa, Tadaharu
Tsumoto
The 35th Annual Meeting of the Japan
Neuroscience Society, 2012/09/18, P1-e29,
Nagoya, Japan

③二光子励起機能的カルシウムイメージ
ング法を用いた大脳皮質視覚野神経回路網の
解析。

惣谷和広

第37回日本睡眠学会定期学術集会、2012年
6月29日、横浜

④Mechanism underlying LTP of inhibitory
synapses to GABAergic neurons in layer
II/III of the mouse visual cortex.

Abdolrahman Sarihi, Javad Mirnajafi-Zadeh,
Bin Jiang, Kazuhiro Sohya, Yuchio
Yanagawa, Tadaharu Tsumoto
The 34th Annual Meeting of the Japan
Neuroscience Society, 2011/09/17, P4-C14,
Yokohama, Japan

⑤Three-dimensional analysis of visually
responsive Parvalbumin-positive neurons
in the mouse visual cortex.

Teppe Ebina, Kazuhiro Sohya, Rui Kimura,
Yin Shu-Ting, Hirofumi Ozeki, Yuchio
Yanagawa, Hiroshi Kameda, Takeshi Kaneko,
Tadaharu Tsumoto

The 34th Annual Meeting of the Japan
Neuroscience Society, 2011/09/16,
03-I-4-3,
Yokohama, Japan

⑥Homosynaptic LTP and heterosynaptic LTD
in layer VI of the mouse visual cortex
induced by white matter or layer II/III
stimulation.

Masoumeh Kourosh Arami, Abdolrahman Sarihi,
Bin Jiang, Kazuhiro Sohya, Tadaharu
Tsumoto

The 34th Annual Meeting of the Japan
Neuroscience Society, 2011/09/15, P2-a20,
Yokohama, Japan

⑦二光子励起機能的 Ca²⁺イメージング法を
用いた大脳皮質視覚野神経回路網の解析。

惣谷和広

第一回睡眠研究会、2011年、岡崎カンファ
レンスセンター

〔図書〕(計1件)

① *in vivo* 2光子励起機能的カルシウムイメ
ーシング法によって見えてきた大脳皮質視
覚野抑制性ニューロンと興奮性ニューロン
の特徴選択性および可塑性の違い。

惣谷和広、蝦名鉄平、津本忠治。

生物物理. 2012 June; 52(3): P126-131.

査読有り

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

惣谷 和広 (SOHYA KAZUHIRO)
独立行政法人理化学研究所・大脳皮質回路可
塑性研究チーム・研究員
研究者番号：80415207

(2) 研究分担者

特に無し。

(3) 連携研究者

特に無し。