

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 13 日現在

機関番号：32651

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23700473

研究課題名(和文)小脳皮質視覚領域の機能とシナプス可塑性

研究課題名(英文)The function and the synaptic plasticity of the cerebellar visual areas.

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円、(間接経費) 1,020,000円

研究成果の概要(和文)：小脳の信号処理機能を知るために、本研究では麻酔下のラットを用いて、小脳の背側傍片葉領域とcrus II領域における機能局在と信号処理機構を調べた。背側傍片葉領域では、強固な視覚刺激に対する応答があり、顆粒細胞を介した信号がプルキンエ細胞に単純スパイクを発生させることが確認された。Crus II領域においては、口唇部の触覚刺激に対して強固な応答があった。この領域の顆粒細胞と大脳皮質体性感覚野の細胞群から同時記録を行ったところ、4～5Hzの周期的な活動が同期していることが見出された。さらに、この活動は橋核ニューロンのバースト発火によって伝達されていることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：It is important to identify functional localization in the cerebellar cortical regions in order to investigate cerebellar signal processing. Using rats under anesthesia, we studied functional localization and signal processing in the cerebellar dorsal paraflocculus and crus II areas. The dorsal paraflocculus had robust response to visual stimulation, which evoked simple spikes in Purkinje cells. The crus II had strong response to the tactile stimulation around the perioral skin. By recording from granule cells in this area and population of neurons in the cerebral somatosensory cortex simultaneously, we found periodic synchronous activities at 4-5Hz. We also revealed that these activities were transmitted by bursting activities of neurons in the pontine nuclei.

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：ニューロン シナプス 回路神経

1. 研究開始当初の背景

小脳皮質は明瞭な3層構造からなり、プルキンエ細胞や顆粒細胞などの数種類の神経細胞が結晶のように規則的に配列された回路を形成している。しかし、視覚野、聴覚野、運動野などの機能局在が良くわかっている大脳皮質に比べ、小脳は機能局在があまり明らかになってはいない。このため、特定の領域についてその特徴的機能を集中的に研究することが難しいという問題点がある。そこで、機能局在が明らかな部位を見出して、その部位を集中的な研究の対象として用いることで研究の促進をはかる必要があった。また、実際に *in vivo* の齧歯動物において実験を進めていくうえで、電極やイメージング手法によるアプローチを容易にするためには、小脳の表面に近い部位についての機能局在を明らかにする必要があった。研究開始までに、研究代表者は、小脳の表面に近い背側傍片葉と呼ばれる領域に、強固な視覚信号入力があることを見出していた。また、先行研究によれば、この視覚信号は大脳皮質視覚野から脳幹の橋核を介した入力であることが推測されたため、大脳との機能連関の研究に適していると期待された。さらに、研究代表者らは聴覚や触覚に反応する小脳領域も同定しつつあった。そこで、これらの感覚入力を利用した小脳機能の研究の進展が見込まれた。

2. 研究の目的

感覚信号が小脳においてどのように処理されるか、またその信号処理は大脳との連関においてどのような意義があるのかを明らかにすることを長期的な目標とし、研究期間においては、特に大脳視覚野と小脳背側傍片葉との結合に着目し、これを小脳のシナプス伝達や可塑性の研究対象として確立することを目的とした。

3. 研究の方法

全ての動物実験は所属研究機関の承認のもとで行った。麻酔下 *in vivo* のラットの小脳皮質ニューロンの活動を記録した。プルキンエ細胞は単一ユニット記録により、顆粒細胞はホールセルパッチクランプ記録により単一細胞からの記録を行った。プルキンエ細胞は特徴的な複雑スパイクを有するユニットとして同定した。顆粒細胞は膜容量が5 pF以下の小型の細胞として同定した。一部の実験では、大脳皮質からの電場電位記録およびマルチユニット活動電位記録も同時に行った。脳幹の橋核細胞からもホールセルパッチクランプを行う際は、動物を仰臥位に固定し、咽頭側から脳幹部を露出させて、電極を刺入した。麻酔薬はケタミンとキシラジンの混合

を用い、心拍数および呼吸数をモニターした。感覚刺激として、視覚刺激(白色LEDによる全視野明刺激)、体性感覚刺激(体表面、特に口唇やヒゲへの空気パフ刺激)、聴覚刺激(スピーカーからの白色雑音刺激)を与えた際のニューロンの応答を記録した。また、特に刺激を与えない場合のニューロンの自発活動も記録した。

4. 研究成果

(1) プルキンエ細胞の視覚刺激応答

視覚刺激による背側傍片葉プルキンエ細胞の応答を記録した結果、視覚刺激により単純スパイクの増加が観察された(図1上段・中段)。このことは、研究代表者による先行研究において視覚刺激により顆粒細胞の活動が顕著に増加することと一致しており、顆粒細胞から平行線維を経て、興奮性シナプス入力によりプルキンエ細胞の発火頻度が増加することを示唆している。一方で、複雑スパイクの頻度は視覚刺激によって増加することはなかった(図1下段)。このことは、視覚刺激によっては、下オリブ核からの登上線維経路の活動は影響を受けないことを示唆している。さらに、触覚刺激や聴覚刺激により登上線維経路の活動を惹起することを試みたが、特定の刺激により複雑スパイクを惹起することはできなかった。したがって、この領域(背側傍片葉)の複雑スパイクがどのような生理的刺激により惹起されるかは今後の課題として残っている。

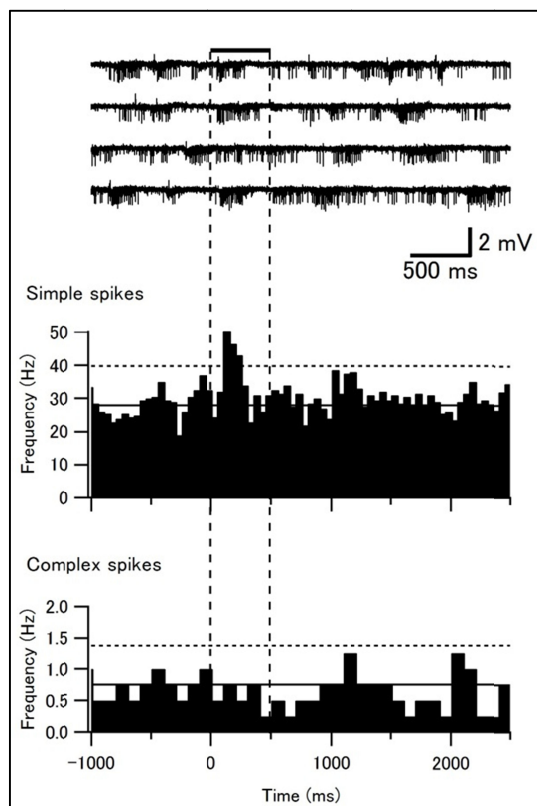


図1 プルキンエ細胞の視覚応答

(2) 小脳顆粒細胞と大脳皮質の同期的自発活動

上述の触覚刺激応答を探索する過程で、小脳 crus II 領域の口唇部触覚刺激への応答は非常に強固であり、背側傍片葉の視覚応答と同等もしくはそれ以上であることが確認された。また、手技上のアプローチのしやすさからも crus II 領域を研究対象として優先することに合理性があった。この考えに基づき、小脳の crus II 領域顆粒細胞からの電位固定記録と、大脳皮質体性感覚野からの同時記録を行ったところ、その双方において 4 ~ 5 Hz の周期的な自発的活動が記録され、この周期的活動は大脳皮質と小脳顆粒細胞で同期していることが明らかになった。この際、小脳顆粒細胞へのシナプス入力とは 4 ~ 5 Hz の頻度で発生するバースト状のシナプス入力として見出され、個々のバーストの内部におけるシナプス電流の発火頻度は 100 Hz を超える高頻度であった(図2)。このことは、大脳と小脳の強固な機能的連関を示唆しており、さらに、その連関を中継する部位である脳幹の橋核のニューロンはバースト発火により、信号を中継していることが示唆された。

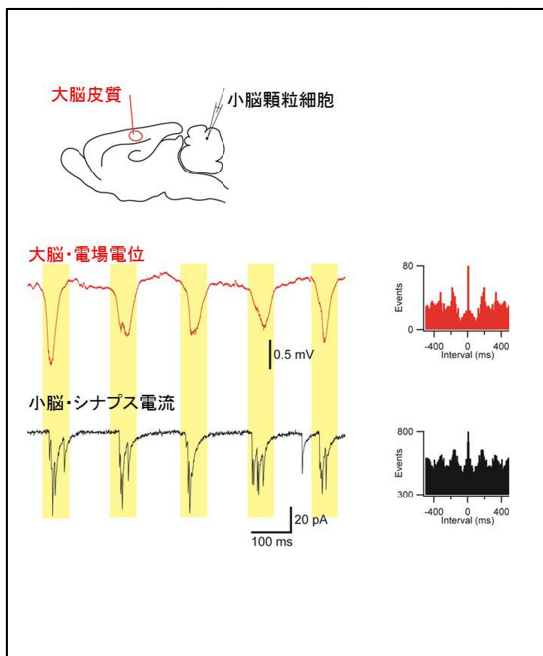


図2 大脳皮質と小脳顆粒細胞の同期的自発活動

(3) 橋核細胞のバースト発火

上述の橋核細胞のバースト状の発火を直接的に確認し、その発生メカニズムを検証するために、橋核ニューロンからホールセル記録を行った。その結果、橋核ニューロンは電位記録モードで自発的バースト発火している

ことが確認され、さらに電位固定下ではバースト状のシナプス入力を受けていることが明らかになった(図3)。このことから橋核ニューロンは大脳皮質から 4 ~ 5 Hz の周期でバースト状のシナプス入力を受けることで、小脳に同様のバースト発火信号を伝送していることが明らかになった。本研究により初めて、このような大脳・橋核・小脳の機能的連関が直接的に単一細胞において示されたことは意義深い。今後は、自発活動の他にも、触覚刺激応答や視覚刺激応答が、どのような発火パターンで大脳から小脳へ伝達されているかを明らかにする必要がある。

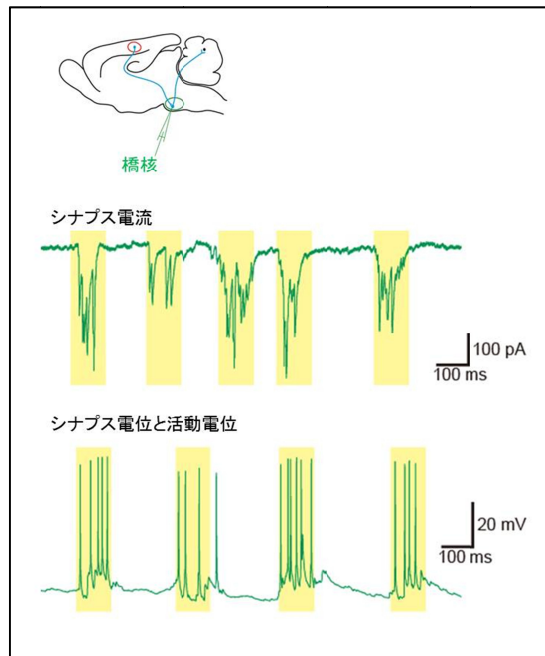


図3 橋核ニューロンのバースト活動

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 7件)

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09月16日

Ishikawa T. Signalling patterns of sensory afferent to the cerebellum. Hebei Medical University 招待講演. 中国, 2011年09月26日

Shimuta M, Ishikawa T, Li WB. Firing frequency of pontine neurons projecting to the cerebellar hemisphere. 第89回日本生理学会大会. 松本, 2012年03月29日

Ishikawa T, Shimuta M. In vivo firing pattern of neurons in the pontine nuclei. 第 35 回日本神経科学大会. 名古屋, 2012 年 09 月 20 日

Shimuta M, Ishikawa T. Periodic synaptic currents and their integration in neurons in the pontine nuclei. 第 89 回日本生理学会大会. 東京, 2013 年 03 月 28 日

Ishikawa T, Shimuta M. Periodic synaptic activity in the ponine nuclei. 第 36 回日本神経科学大会. 京都, 2013 年 06 月 20 日

Ishikawa T, Shimuta M. Cellular level analysis of input signals to the cerebellum. 第 36 回日本神経科学大会 / サテライトシンポジウム招待講演. 京都, 2013 年 06 月 22 日

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.jikei-pharm.com/>

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：5 0 5 4 7 9 1 6

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし