

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 9 日現在

機関番号：63905

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24700338

研究課題名(和文) 前頭皮質5層局所回路における興奮性 抑制性情報処理システムの解明

研究課題名(英文) Excitatory-Inhibitory recurrent networks in layer5 frontal cortex

研究代表者

高田 美絵子(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：30435531

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円、(間接経費) 900,000円

研究成果の概要(和文)：大脳皮質5層錐体細胞は、その軸索の投射先によって、二種類の錐体細胞に分けられる。両側の線条体に投射する細胞(CCS細胞)と同側の線条体及び、橋核へ投射する細胞(CPn細胞)である。これらの2つの異なる錐体細胞はシナプス伝達様式、結合性が異なることが明らかとなっている。しかしながら、抑制性細胞(FS細胞、LTS細胞)との関係については明らかとなっていない。そこで、これらの間のシナプス特性について調べた。特に2つの錐体細胞からFS細胞への短期可塑的变化について詳しく調べた。そうしたところ、錐体細胞の投射先に依存して、その可塑的变化が異なることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：Neocortical pyramidal cells send axons to diverse extracortical targets, but also issue the intracortical collaterals innervating other pyramidal cells as well as GABAergic cells. Recently it has been proposed that most of GABAergic interneurons make synapses on nearby pyramidal cells in a non-selective manner. On the other hand, synaptic connections between pyramidal cells are selectively formed according to extracortical projection patterns. Therefore, we analyzed synaptic connections between GABAergic interneurons and pyramidal cells specified projection targets. First, we investigated the connections with FS (fast spiking) cells. The connection probability from pyramidal cells to FS was similar. The short term plasticity of EPSCs was depressive in most connections from CCS to FS cell, but facilitatory in connections from CPn to FS cells. These results suggest that the intracortical inhibitory system is organized according to diverse pyramidal projection subtypes.

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：錐体細胞 抑制性細胞 シナプス結合

1. 研究開始当初の背景

近年、急速な光遺伝学の普及により特定の細胞群に特異的に光刺激によって活動を引き起こすことによって、脳スライス標本においても *in vivo* 状態と同じような振動をおこさせることができることが知られている。例えば、FS 細胞が 40Hz のガンマ振動発生に、重要であることが明らかとなってきた。しかしながら、このようなリズムにどのように、興奮性細胞、抑制性細胞が関与しているのか、いまだ明らかでない点が多い。そこで、前頭皮質 5 層錐体細胞と抑制性細胞の回路系を用いて、このような振動発生のメカニズムをシナプスレベルで明らかにしたいと考えた。

2. 研究の目的

前頭皮質 5 層錐体細胞が軸索の投射先によって大きく 2 種類の錐体細胞サブグループに分けられる。反対側の線条体に投射し同時に同側の線条体で軸索をおえるもの (crossed corticostriatal cell, CCS 細胞) と同側の線条体及び、橋核へ投射するもの (corticopontine cell, CPn 細胞) である。これらの 2 種はそれぞれ異なるシナプス伝達様式を持つ。

しかしながら抑制性細胞に対して、どのような入力特性を持つのかについては明らかとなっていない。そこで、2 種の特定のサブグループ間のシナプス特性を比較することによって、リズム振動との関係について調べる。

3. 研究の方法

生後 17-21 日齢のラットを全身麻酔し、*in vivo* の状態で、線条体もしくは橋核に逆行性蛍光色素 (beads、もしくは Chorea toxin subunit B) をピコポンプによって圧注入する。2-3 日の回復期間をおいた後に前頭皮質からスライス切片を作成する (J.Neurosci, 26: 4394-4405, 2006)。逆行性トレーサーによって錐体細胞の細胞体が蛍光標識され、サブタイプを同定することが可能となる。また、2 箇所異なる場所には注入する場合、2 種の逆行性トレーサーを注入することによって、2 種の錐体細胞を同時に実験することが可能となる。この方法で錐体細胞が標識されたスライス標本を用いて、抑制性細胞と 2 細胞もしくは、3 細胞同時ホールセル・パッチクランプ記録によって結合様

式、シナプス伝達様式、周波数特性を調べる。抑制性細胞は、その独自の発火特性によって、タイプ分けする。同時記録を行う際には、錐体細胞と抑制性細胞の細胞間距離は 100 μ m 以内として実験を行う。

4. 研究成果

(1) 大脳皮質の抑制性細胞の中で、脱分極、過分極通電に対する応答の違いから分類可能である Fast spiking 細胞 (FS 細胞) と Low threshold spike 細胞 (LTS 細胞) に着目した (Fig.1)。これらの 2 種の抑制性細胞は軸索の形態からも明らかのように (Fig.1 赤) 錐体細胞への入力の仕方が異なり、FS 細胞は、主に細胞体など、局所的な抑制をかけ、LTS 細胞は、

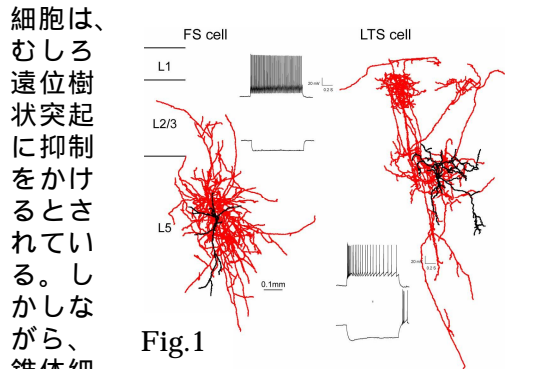


Fig.1

むしろ遠位樹状突起に抑制をかけるとされている。しかしながら、錐体細胞を特定して、これらの 2 種の抑制細胞との興奮-抑制の関係についてほとんど調べられていない。

そこで、まず、FS 細胞から 2 種の錐体細胞のシナプス結合性について調べた。同時に二つの細胞から (FS 細胞と CCS 細胞もしくは、CPn 細胞) から記録を行い、抑制性シナプス結合について調べた。その結果結合確率は、有為な差はみられなかった。他のグループからの報告で、FS 細胞から錐体細胞への抑制性シナプス入力ランダムであるという報告もあれば、特異性があるという報告もあるため、さらに、理解を深めるために、一つの FS 細胞が、2 種の錐体細胞を選択的に結合しうかどうかを調べるために、3 通りの組み合わせで 3 細胞同時記録を行った (Fig.2)。その結果、3 細胞同時記録をした場合に、FS

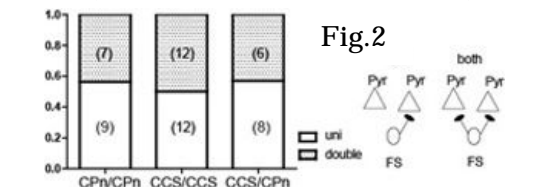


Fig.2

細胞は、どの組み合わせに対しても 2 細胞同時入力する確率は変わらず、ランダムにシナプス結合することが明らかとなった。また、シナプス強度、短期可塑性について調べたが、FS 細胞から 2 種類の錐体細胞へは有為な差はみられなかった。

(2) 次に、それぞれの錐体細胞から FS 細胞へ興奮性シナプス結合を調べた。その結果、興奮結合確率に関しても差が見られなかつ

た。また、シナプス強度に関しても有為な差が見られなかった。しかしながら、これら2種の錐体細胞間では特に、刺激をするシナプス前細胞サブタイプに依存して、短期可塑的变化が異なることをすでに明らかとしているため、次に、FS細胞における2発の連続したスパイク入力への短期可塑的变化について調べた。

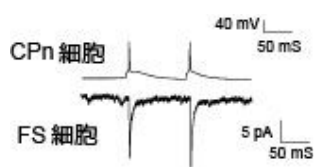
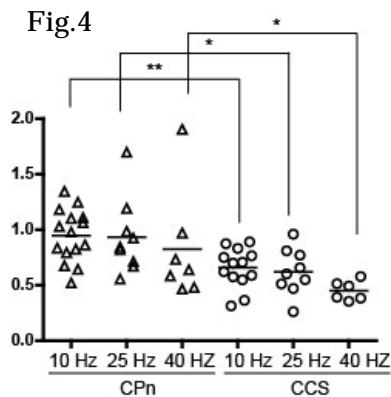


Fig.3では、シナプス結合がみられたCPn細胞からFS細胞へ

100msの間隔で(10Hz)2発のスパイクを引き起こしたときの興奮性電流の変化(短期可塑的变化)の例である。この例では1つ目のスパイクへの反応より、2つ目の反応が大きく、シナプス伝達増強がみられた。反対に2つ目の反応のほうが小さい場合に、シナプス伝達減弱と呼ぶ。今回の課題である振動との関連を調べるために、連続して引き起こすスパイクの間隔を変化させ、周波数特性(10Hz, 25Hz, 40Hz)を詳しく調べた。

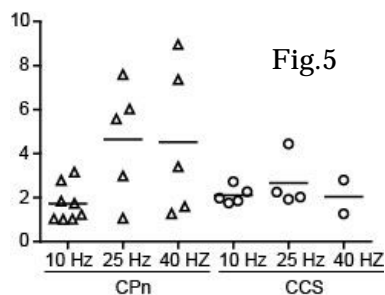
そうしたところ、CCS細胞は、周波数が高くなるにつれ、シナプス伝達減弱が強くなる傾向がみられたが、CPn細胞は、どの周波数においてもシ



ナプス伝達増強がみられた(Fig.4)。

また、それぞれの周波数ごとにCPn細胞とCCS細胞間では有為に差がみられた。それぞれの錐体細胞へは、ランダムな抑制をかけることが明らかとしたが、錐体細胞が、そのサブタイプに依存して、FS細胞への興奮性入力を周波数に応じて、減衰させたり、周波数に関わらず、一定の増強反応を引き起こすことによって、FS細胞を制御しうることが示唆された。

(3)次に、特に、差が顕著であった、周波数特性の違いについて、調べるためにそれぞれの2種の錐体細胞と、LTS細胞について、同様に記録を行った。その結果、2種の錐体細胞ともにシナプス伝



達増強がみられた。特に、CPn細胞からLTS細胞への周波数特性は、非常に強いものがみられた。しかしながら、有為な差としてはみられなかった。これらのことから、投射先に依存した錐体細胞は、抑制性細胞に対して、特定の周波数に応じて興奮性入力をした場合に、異なる短期可塑的变化を引き起こすことによって、FS細胞、LTS細胞の働きを制御しうることが示唆された。

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)

Morita K, Morishima M, Sakai K, Kawaguchi Y., Dopaminergic control of motivation and reinforcement learning: a closed-circuit account for reward-oriented behavior, J Neurosci. 査読あり、2013、8866-90

Ueta Y, Otsuka T, Morishima M, Ushimaru M, Kawaguchi Y., Multiple Layer 5 Pyramidal Cell Subtypes Relay Cortical Feedback from Secondary to Primary Motor Areas in Rats., Cereb Cortex, 査読あり、2013、Advance Access published 1-15

Morita K, Morishima M, Sakai K, Kawaguchi Y. Reinforcement learning: computing the temporal difference of values via distinct corticostriatal pathways. Trends Neurosci., 査読あり、2012、457-67

[学会発表](計 2 件)

森島 美絵子, Excitatory / inhibitory recurrent networks dependent on the pyramidal projection types in the frontal cortex, 第6回 NAGOYA グローバルリトリート、2014年2月14日、あいち健康プラザ (愛知県、大府市)

森島 美絵子, 川口泰雄, 前頭皮質第5層における興奮性・抑制性細胞間の結合性 第35回日本神経科学大会 2012年9月19日、名古屋国際会議場(愛知県、名古屋市)

[図書](計 0 件)

[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

高田 美絵子 (森島 美絵子)

(TAKADA, Mieko (MORISHIMA, Mieko))

生理学研究所・大脳皮質機能研究系・助教

研究者番号： 30435531

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：