

「脳神経回路の形成・動作原理の解明と制御技術の創出」
平成21年度採択研究代表者

H23 年度 実績報告

川口 泰雄

自然科学研究機構生理学研究所・教授

大脳領域間結合と局所回路網の統合的解析

§ 1. 研究実施体制

(1) 川口グループ

① 研究代表者: 川口 泰雄 (自然科学研究機構生理学研究所、教授)

② 研究項目

- ・皮質ニューロンの同定と構造解析
- ・局所回路の結合特異性解析: 新皮質回路解析
- ・大脳局所回路間の相互作用解析: 前頭皮質/視床を中心にして

(2) 窪田グループ

① 主たる共同研究者: 窪田 芳之 (自然科学研究機構生理学研究所、准教授)

② 研究項目

- ・皮質ニューロンの同定と構造解析
- ・局所回路の結合特異性解析: 新皮質回路解析

(3) 藤山グループ

① 研究分担グループ長: 藤山 文乃 (京都大学大学院医学研究科、准教授)

② 研究項目

- ・局所回路の結合特異性解析: 大脳基底核内結合解析
- ・大脳局所回路間の相互作用解析: 基底核入出力を中心にして

§2. 研究実施内容

(文中に番号がある場合は(3-1)に対応する)

大脳皮質ニューロンは多様で、その神経結合は極めて複雑であり、それらが作る神経回路の動作原理は未だによくわかっていない。「新皮質の最も大きな特徴は幅 0.1mm ほどの微小領域からの多様な皮質外構造への投射であり、出力先機能分化に対応するために多様な投射ニューロンを備え、出力多様性に対応して抑制系を分化させている。」という考え方にたって、今年度は以下の研究を実施した。

(a) 大脳皮質介在ニューロンの樹状突起の普遍的な性質⁴⁾

電顕切片3次元再構成法を使って大脳新皮質介在ニューロン(非錐体細胞)の形態を解析したところ、樹状突起構築法則が明らかになった。一つは、樹状突起の断面積はその点よりも先端にある樹状突起の長さの合計に比例する。この原理に相応して、樹状突起の分岐点では、分岐前の断面積と分岐後の断面積の合計はほぼ完全に一致している事もわかった。二つ目は、樹状突起の断面は、細胞体に近い太い部分ほど、より扁平な楕円形である事がわかった。コンピュータ・シミュレーション解析をした結果、上述の普遍的形態特性が、細胞体に伝搬する EPSP の大きさが距離依存的に等しくなるというフィルター特性と、細胞体の脱分極電位が全樹状突起へ均一に伝播する現象のベースになっている事がわかった。

(b) 高度に分化した投射特異的な5層サブネットワーク³⁾

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)で、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。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が、投射タイ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 細胞という一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。

(c) 徐波・脱同期化における視床皮質サブネットワーク活動⁸⁾

睡眠や麻酔時の脳波は約1ヘルツの成分(徐波)が強く、覚醒するとそれが消失する(脱同期化)。徐波中の皮質ニューロン膜電位は、UP とよばれる脱分極状態と、DOWN とよばれる過分極状態の間を不規則に遷移している。UP 脱分極中には視床由来の振動であるスピンドルが入れ子になっている。UP/DOWN 振動への視床皮質ループの関与を明らかにするために、徐波と脱同期化時に前頭皮質5層の皮質の視床への投射細胞、視床の前頭皮質への主要な入力源である小脳や大脳基底核からの入力を受ける核群、これらの視床出力ニューロンを抑制する網様核から単一ニューロン活動を記録した。その結果、視床の基底核連関核や網様核に UP 開始選択的に反応す

る細胞があること、皮質の視床への投射細胞に比べて、視床細胞はUPの時期選択的に発火する細胞が多いこと、スピンドル発火位相が皮質細胞と視床細胞で異なること、UPと脱同期化での発火頻度変化がニューロンタイプごとに異なることを見つけた。視床皮質サブネットワーク活動が徐波/スピンドルの位相によって分化しており、視床の基底核連関核がUP開始に深く関与すること、UPと脱同期化は異なった脱分極状態であることがわかった。

(d) 前頭皮質と海馬傍領域をつなぐサブネットワークの多様性⁹⁾

嗅周皮質へ投射する前頭皮質錐体細胞は多様なサブタイプからできていることが分かった。2/3層上部からは主に嗅周皮質35野へ、5層上部からは嗅周皮質36野へ投射する。同じ5層上部の嗅周皮質と視床へ投射する細胞とでは、電気的性質や樹状突起・軸索形態が異なっていた。前頭皮質の中では、2/3層嗅周皮質投射細胞からは、5層の嗅周皮質と視床投射細胞へ同じようなシナプス結合を作るのに対して、5層からのバック結合は、嗅周皮質投射細胞同士の間で見られた。前頭皮質から海馬傍領域への投射には海馬傍領域における階層が異なる部位、36野と35野へ行く二つの出力チャンネルがあり、後者は2/3層にあり、扁桃体にも行くものがあることがわかった。5層内では、嗅周皮質投射から視床投射細胞への方向選択的結合が考えられ、前者は両側線条体、後者は同側線条体と橋核への出力もある。これらを合わせて考えると、前頭皮質出力ニューロンは記憶学習システムへの関与の仕方から選別的結合を作り、精緻に多様化していると思われる。

(e) 線条体介在細胞への皮質・視床入力様式の比較解析

線条体は層構造やカラム構造を持たず、それぞれの神経が大脳皮質や視床からどのような入力を受けているのかを解析することには困難があった。今回、介在神経の一つであるパルブアルブミン陽性ニューロンの細胞体と樹状突起膜に緑色蛍光タンパクを発現する遺伝子改変マウスを作成した(Kameda et al., 2011)。このマウスを用い、小胞性グルタミン酸トランスポーターの免疫組織化学を行うことによって、大脳皮質および視床からパルブアルブミン陽性ニューロンへの入力様式を解析した。パルブアルブミン陽性ニューロンは大脳皮質のみならず視床からも強い入力を受けており、大脳皮質からの投射は遠位樹状突起を好んで投射していることがわかった。

(f) 大脳基底核の領域間結合解析

昨年度遺伝子改変ウイルスベクターを用いた単一軸索染色を用いて線条体投射ニューロンの投射様式を調べるために用いた(Fujiyama et al., 2011)。これと同じ手法を用いて大脳基底核の中継核である淡蒼球外節ニューロン(Fujiyama et al., 学会発表)と視床下核ニューロンの投射様式を解析した。淡蒼球外節ニューロンは吻側から尾側にかけて投射様式の違う少なくとも3領域が存在することがわかった(Fujiyama et al., 学会発表)。

§3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

- 論文詳細情報
- 1. 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. *Cereb Cortex*. 21:1803-1817, 2011. (DOI: 10.1093/cercor/bhq252)
- 2. Chen JL, Lin WC, Cha JW, So PT, Kubota Y, Nedivi E. Structural basis for the role of inhibition in facilitating adult brain plasticity. *Nat Neurosci*. 14:587-594, 2011. (DOI: 10.1038/nn.2799)
- 3. Morishima M, Morita K, Kubota Y, Kawaguchi Y. Highly differentiated projection-specific cortical subnetworks. *J Neurosci*. 31:10380-10391, 2011. (DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0772-11.2011)
- 4. Kubota Y, Karube F, Nomura M, Gullledge AT, Mochizuki A, Schertel A, Kawaguchi Y. Conserved properties of dendritic trees in four cortical interneuron subtypes. *Sci Rep*. 1:89, 2011. (DOI: 10.1038/srep00089)
- 5. Tanaka YH, Tanaka YR, Fujiyama F, Furuta T, Yanagawa Y, Kaneko T. Local connections of layer 5 GABAergic interneurons to corticospinal neurons. *Front Neural Circuits*. 5:12, 2011. (DOI: 10.3389/fncir.2011.00012)
- 6. Tanaka YR, Tanaka YH, Konno M, Fujiyama F, Sonomura T, Okamoto-Furuta K, Kameda H, Hioki H, Furuta T, Nakamura KC, Kaneko T. Local connections of excitatory neurons to corticothalamic neurons in the rat barrel cortex. *J Neurosci*. 31:18223-18236, 2011.(DOI: 10.1523/JNEUROSCI.3139-11.2011)
- 7. Shino M, Kaneko R, Yanagawa Y, Kawaguchi Y, Saito Y. Electrophysiological characteristics of inhibitory neurons of the prepositus hypoglossi nucleus as analyzed in Venus-expressing transgenic rats. *Neuroscience*. 197:89-98, 2011. (DOI: 10.1016/j.neuroscience.2011.09.017)
- 8. Ushimaru M, Ueta Y, Kawaguchi Y. Differentiated participation of thalamocortical subnetworks in slow/spindle waves and desynchronization. *J Neurosci*. 32:1730-1746, 2012. (DOI: 10.1523/JNEUROSCI.4883-11.2012)
- 9. Hirai Y, Morishima M, Karube F, Kawaguchi Y. Specialized cortical subnetworks differentially connect frontal cortex to parahippocampal areas. *J Neurosci*. 32:1898-1913, 2012. (DOI:10.1523/JNEUROSCI.2810-11.2012)
- 10. Hatanaka Y, Yamauchi K. Excitatory cortical neurons with multipolar shape establish neuronal polarity by forming a tangentially oriented axon in the

intermediate zone. *Cereb Cortex*, in press.

11. Kameda H, Hioki H, Tanaka YH, Tanaka T, Sohn J, Sonomura T, Furuta T, Fujiyama F, Kaneko T. Parvalbumin-producing cortical interneurons receive inhibitory inputs on proximal portions and cortical excitatory inputs on distal dendrites. *Eur J Neurosci*, in press
12. Ohno S, Kuramoto E, Furuta T, Hioki H, Tanaka YR, Fujiyama F, Sonomura T, Uemura M, Sugiyama K, Kaneko T. A Morphological analysis of thalamocortical axon fibers of rat posterior thalamic nuclei: A single neuron tracing study with viral vectors. *Cereb Cortex*, in press

(3-2) 知財出願

- ① 平成 23 年度特許出願件数(国内 0 件)
- ② CREST 研究期間累積件数(国内 0 件)