

学内グラント 報告書

平成22-23年度 学内グラント終了時報告書

脳内神経回路オシレーション発生における GABA ニューロンの役割

研究代表者 伊丹 千晶 (医学部 生理学)

研究分担者 村越 隆之*

緒 言

神経の活動依存的変化(可塑性)は、脳の神経回路形成と記憶学習の基本メカニズムと考えられている。発達期の脳の神経回路形成は、遺伝的因子と経験的因子の相互作用によって進行する。とりわけ臨界期には、経験依存的に神経回路を再構成し、それ以後の脳機能を規定することになる。

大脳皮質のニューロンは、興奮性と抑制性の2種類に大別されるが、抑制性ニューロンは、全体の約20%を占める。興奮性細胞は伝達物質としてグルタミン酸を放出し、シナプス後細胞に脱分極を起こすが、抑制性細胞は、 γ アミノ酪酸(GABA)放出して、シナプス後細胞に過分極を起こし、興奮性ニューロンの情報伝達を調節している。

発達期の視覚皮質では、GABA細胞が可塑性の発現に重要な働きをしていることが示唆されていることから¹⁾、GABA細胞と可塑性発現との関連には多大の注目をうけているが、過分極が可塑性を発現させるメカニズムの詳細についてはほとんどわかっていない²⁾。

一方、脳の特定部位では興奮性シナプスの活動に伴い、抑制性ニューロン回路に振動(オシレーション、リズム活動)を誘発することが知られている。例えば、Non-REM睡眠開始時に脳波で記録される除波・紡錘波は、視床-皮質回路のオシレーションにより発生すると示唆され、記憶形成や癲癇発作に関与していると考えられている。

本研究では、抑制性回路が脳機能にどのように関与しているのか、特に、抑制性回路の異常により起こる神経ネットワークオシレーションなどの脳のリズム活動、及び可塑性発現のメカニズムを検討する。

材料と方法

*医学部 生理学

抑制性回路が「神経可塑性」にどのように寄与しているか明らかにするため、外的刺激に最も感受性をもつ「臨界期」と呼ばれる時期のマウス大脳皮質を実験材料とした。実験は、生後7日から25日目のC57BL/6マウスより作製した視床(後内側腹側核)―第1次体性感覚野皮質間連絡線維を保持した急性切片標本(thalamocortical slice)を用いて行った。刺激電極を入力線維(視床または皮質2/3層)に置き、皮質第2/3層の興奮性細胞(顆粒細胞、錐体細胞)からパッチクランプ法を用いて、刺激により誘発されるホールセル電流を記録した。記録は電流固定下で行い、まず細胞内通電による発火特性を調べ、興奮性細胞であることを確認した。実験後、記録細胞を形態学的に解析する目的で、電極内にはニューロビオチンを封入した。

結果および考察

抑制性回路の発達によるスパイクタイミング依存性可塑性の変化

視床からの興奮性入力、皮質第4層細胞にシナプス結合し、さらに4層細胞は2/3層細胞へシナプス結合する。体性感覚皮質の臨界期可塑性には、4層-2/3層間シナプスが重要な役割を果たすと考えられている。また、このシナプスは、可塑性の方向と程度がシナプス前細胞(4層細胞)とシナプス後細胞(2/3層細胞)の正確な発火タイミングに依存する、スパイクタイミング依存性可塑性(STDP: spike timing-dependent plasticity)が重要と考えられている。以前、我々は、視床からダイレクトに入力を受ける4層パルブアルブミン陽性FS(Fast spiking cell)抑制性細胞の発現は、生後2週以降に始まることを示した³⁾。また、このFS細胞は、4層-2/3層フィードフォワード抑制回路を形成し、4層細胞と2/3層錐体細胞の発火タイミングを極めて精密に制御していることを示した⁴⁾。すなわち、生後2週以降にはじめて、4層→2/3層順のスパイク発火が起こることになる。そこで今回、スパイク発火順序形成前後(生後2週前後)でスパイクタイミン

グ依存性可塑性の性質が変化する可能性を検討し、抑制性回路の発達と可塑性発現の関連を探索した。その結果、これまでの報告と一致して、生後3週以降では、プレーポスト順の発火タイミングでは、長期増強 (Long-Term Potentiation; LTP)、ポストプレー順の発火タイミングでは、長期抑圧 (Long-Term depression; LTD) が誘発されることが確認出来た⁵⁾。ところが、生後2週目にはポストプレータイミングによる長期抑圧が欠落し、その代わりに、LTPが誘発することを見出した。すなわち、生後2週目ではプレーポスト順でもポストプレー順でもいずれもシナプス強度が強化され、生後3週以降とは異なるスパイクタイミング依存性可塑性を示すことが明らかとなった。

スパイクタイミング依存性可塑性の性質変化メカニズム

大麻の有効成分であるカンナビノイドは、近年、脳内に広範に分布する逆行性の神経伝達物質として注目を受けた。一方、大脳皮質体性感覚野においては、4層-2/3層間のスパイクタイミング依存性可塑性のうち、ポストプレータイミング刺激による長期抑圧は、カンナビノイド依存性であることが知られていた。上述のように、生後2週令の動物では4層-2/3層間には異なるスパイクタイミング依存性可塑性が発現され、長期抑圧が見られないことを明らかにしたが、長期抑圧の欠落は、4層-2/3層シナプスにおいて、カンナビノイド受容体CB1が発現していないことによるものであることを電気生理実験、および組織免疫実験により示した。

臨界期開始にはLTDが必要である

ラットやマウスなどのげっ歯類では、体性感覚、なかでも頬ヒゲの感覚が非常に良く発達し、大脳皮質体性感覚野第4層には、同一の髭からの入力を受ける神経細胞が集まったバレル構造が存在する。臨界期において、頬ヒゲからの入力を遮断することにより体性感覚野第4層から2/3層への興奮性シナプス伝達が減弱する。これは、入力遮断による神経活動の低下により長期抑圧が誘導されているということが示されており⁶⁾、臨界期可塑性の発現には、ヒゲ除去により誘発される長期抑圧が必要であることが明らかとなっている。一方我々は、上述のように生後2週目には長期抑圧が欠落していることを見出した。このことは、長期抑圧メカニズムの獲得が臨界期可塑性の開始を導くことを強く示唆している。そこで我々は、長期抑圧が欠落した生後2週令のマウスにおいて、ヒゲを切除により4層-2/3層シナプス伝達が減弱するかを調べた。その結果、生後2週令以前に施行したヒゲ切除では、4層-2/3層の興奮性シナプス伝達が減弱しないことを見出した。このことは、活動依存的長期抑圧の獲得が臨界期開始には必要であることを示している。

臨界期発現のメカニズムを明らかにすることは、社

会的影響力も甚大であると考えられる。直接的には、早期教育や生涯教育のあり方等に議論を起こすことも考えられる。また、臨界期発現を制御する方法を見出せば、さらに影響力は大きい。具体的には、薬物により可塑性発現を制御することが可能となれば、例えばリハビリテーション時の効果的投薬や訓練法の開発、また認知症の改善薬の開発等も視野に入ることが期待される。

引用文献

- 1) Hensch TK, Stryker MP. Columnar architecture sculpted by GABA circuits in developing cat visual cortex. *Science* 2004;303:1678-81.
- 2) Fagioli M, Fritschy JM, Löw K, Möhler H, Rudolph U, Hensch TK. Specific GABA_A circuits for visual cortical plasticity. *Science* 2004;303:1681-3.
- 3) Itami C, Kimura F, Nakamura S. Brain-derived neurotrophic factor regulates the maturation of layer 4 fast-spiking cells after the second postnatal Week in the developing barrel cortex. *J Neurosci* 2007;27:2241-52.
- 4) Kimura F, Itami C, Ikezoe K, Tamura H, Fujita I, Yanagawa Y, Obata K, Ohshima M. Fast activation of feedforward inhibitory neurons from thalamic input and its relevance to the regulation of spike sequences in the barrel cortex. *J Physiol* 2010;588:2769-87.
- 5) Feldman DE. Timing-based LTP and LTD at vertical inputs to layer II/III pyramidal cells in rat barrel cortex. *Neuron* 2000;27:45-56.
- 6) Allen CB, Celikel T, Feldman DE. Long-term depression induced by sensory deprivation during cortical map plasticity in vivo. *Nat Neurosci* 2003;6:291-9.

研究成果リスト

論文

- 1) Itami C, Kimura F. Developmental switch in the spike-timing dependent plasticity contributes to the initiation of the critical period. (Submitted)
- 2) Adachi N, Numakawa T, Kumamaru E, Itami C, Chiba S, Iijima Y, Richards M, Katoh-Semba R, Kunugi H. Phencyclidine-induced decrease of synaptic connectivity via inhibition of BDNF secretion in cultured cortical neurons. *Cereb Cortex*. 2012 Mar 30.
- 3) Kimura F, Itami C, Ikezoe K, Tamura H, Fujita I, Yanagawa Y, Obata K, Ohshima M. Fast activation of feedforward inhibitory neurons from thalamic input and its relevance to the regulation of

spike sequences in the barrel cortex. *J Physiol* 2010;588:2769-87.

学会発表

- 1) 木村文隆, 伊丹千晶, 山崎美和子, 渡辺雅彦. バレル皮質 2/3 層錐体細胞への2つの異なるスパイクタイミング依存性可塑性の収束, 第 89 回日本生理学会大会, 平成 24 年 3 月, 長野
- 2) 伊丹千晶, 山田真弓, 木村文隆, 池田正明, 中尾啓子. 子宮内電気穿孔法と電気生理学的手法による大脳皮質体性感覚野抑制性神経細胞の分化・成熟の分子機構の解析, 第 34 回日本分子生物学会年会, 平成 23 年 12 月, 横浜
- 3) Itami C, Kimura F. A developmental switch in the spike timing dependent plasticity coincidentally occurring with the initiation of map plasticity in the barrel cortex, Society for Neuroscience (41st Annual meeting), November 2011, USA
- 4) 水井利幸, 上垣浩一, 石川保幸, 原とも子, 高橋正身, 塩坂貞夫, 伊丹千晶, 熊ノ郷晴子, 小島正己. 多型による神経栄養因子の新しい機能制御, 第 34 回日本神経科学大会, 平成 23 年 9 月, 横浜
- 5) 木村文隆, 伊丹千晶. 発達期バレル皮質 2/3 層錐体細胞への2つの異なるスパイクタイミング依存性可塑性の集束, 第 34 回日本神経科学大会, 平成 23 年 9 月, 横浜
- 6) 安達直樹, 沼川忠広, 熊丸絵美, 伊丹千晶, 千葉秀一, 飯島良味, 仙波りつ子, 功刀浩. フェンサイクリジンが引き起こすシナプス減少に BDNF の機能障害が関与する, 第 34 回日本神経科学大会, 平成 23 年 9 月, 横浜
- 7) Kimura F, Itami C. Developmental switch in the spike timing dependent plasticity at layer 4 to layer 2/3 synapses in coincidence with the initiation of critical period in the mouse barrel cortex, 8th IBRO world congress of neuroscience, July 2011, Italy
- 8) 伊丹千晶, 木村文隆. バレル皮質生後 2 週目に現れる 2/3 層錐体細胞へのスパイクタイミング依存性可塑性の解析, 第 88 回日本生理学会大会, 第 116 回日本解剖学会総会・全国学術集, 平成 23 年 3 月, 横浜
- 9) Itami C, Yanagawa Y, Kumanogoh H. Gene expression analysis of inhibitory cells derived from developing barrel cortex in BDNF knockout mice, 第 32 回日本分子生物学会年会, 平成 22 年 12 月, 神戸
- 10) 長岡麻衣, 伊丹千晶, 山田真弓, 木村文隆, 池田正明, 中尾啓子. 宮内電気穿孔法により遺伝子導入された大脳皮質体性感覚野抑制性神経細胞の電気生理学的・神経化学的解析法の開発, 第 32 回日本分子生物学会年会, 平成 22 年 12 月, 神戸
- 11) Itami C, Kimura F. Characterization of bilateral spike timing dependent plasticity specifically appeared during the 2nd postnatal week at L4-L2/3 synapses in the mouse barrel cortex, Society for Neuroscience (40th Annual meeting), November 2010, USA
- 12) 安達直樹, 沼川忠広, 熊丸絵美, 伊丹千晶, 仙波りつ子, 功刀浩. フェンサイクリジンは BDNF の分泌阻害を介して大脳皮質ニューロンの興奮性シナプスを減少させる, *Neuro* 2010, 平成 22 年 10 月, 神戸
- 13) 木村文隆, 伊丹千晶. バレル皮質 4 層-2/3 層間のスパイクタイミング依存性可塑性と発達に伴う変化, *Neuro* 2010, 平成 22 年 10 月, 神戸
- 14) 木村文隆, 伊丹千晶. 4-2/3 層間シナプスのフィードフォワード抑制による発火タイミング制御の発達とそれに伴う STDP の変化, 第 87 回日本生理学会大会, 平成 22 年 5 月, 神戸