

氏 名 平井 康治

学位（専攻分野） 博士（理学）

学位記番号 総研大 1296 号

学位授与の日付 平成 21 年 9 月 30 日

学位授与の要件 生命科学研究科 生理科学専攻
学位規則第 6 条第 1 項該当

学位論文題目 Local and distal connections of neocortical pyramidal
cells projecting to the perirhinal regions

論文審査委員 主 査 教授 伊佐 正
教授 南部 篤
教授 小松 由紀夫(名古屋大学)
教授 川口 泰雄

論文内容の要旨

大脳皮質は機能や構造の異なる多様な領域からできており、特定の領域間で相互結合がよく発達していることが分かっている。皮質機能を理解するには、この選択的な皮質領域間結合と他の脳領域投射の局所回路における相互作用を明らかにする必要がある。しかし、皮質間結合と皮質下投射を担う錐体細胞の関係や局所結合についてはほとんど分かっていない。

皮質間結合の一つに新皮質海馬投射があり、これは陳述記憶の形成に重要な働きをすると考えられている。しかし、新皮質から海馬へは多くの場合直接の投射ではなく、嗅周皮質を介して行われる。本研究では、皮質領域間・皮質下投射結合に依存した新皮質局所回路分化を理解することを目指して、この前頭皮質から嗅周皮質へ投射する錐体細胞の多様性と、それらの皮質内・皮質下結合選択性を調べた。

前頭皮質の錐体細胞投射サブタイプは、標的部位への蛍光トレーサー注入による逆行性標識で同定した。投射部位二カ所への軸索分枝様式の解析には、異なる蛍光の二種類のトレーサーを用いた。逆行性蛍光標識された錐体細胞から、脳切片標本でホールセル記録することで、錐体細胞投射サブタイプの電気的性質を調べた。投射サブタイプ間のシナプス結合は二個の細胞からの同時記録で調べた。電気生理実験後に細胞内染色した細胞をニューロロシダで再構成することで、記録細胞の形態を定量化した。

前頭皮質から嗅周皮質へ投射する細胞は2/3層上部、5層上部、6層に分布していた。2/3層上部のものはカルシウム結合蛋白質のカルビンディンを発現し、その一部は扁桃体へも投射していた。一方、5層上部のものは対側線条体に投射しており、脳幹の橋への投射は見られなかった。視床投射細胞は5層上部にみられたが、同じ5層上部の嗅周皮質投射細胞とは重ならず、橋投射細胞の一部であった。

嗅周皮質は背側の36野と腹側の35野に大きく分かれるので、前頭皮質からの投射に嗅周皮質内領域特異性があるかを、逆行性トレーサーを電気泳動法で領域選択的に投与することで検討した。前頭皮質2/3層と5層の細胞をカルビンジン発現で区別し、36野と35野から逆行性標識される割合を各層で調べた。その結果、2/3層細胞は35野に、5層細胞は36野に多く投射することが分かった。2/3層細胞、5層細胞のどちらの投射も嗅周皮質内では吻側部に限局し、嗅周皮質背側の側頭皮質や腹側の梨状皮質には見られなかった。

2/3層と5層の嗅周皮質投射細胞の電気的性質を視床投射細胞と比較したところ、静止膜電位は2/3層、5層嗅周皮質投射細胞、視床投射細胞の順で過分極しており、嗅周皮質投射細胞の入力抵抗は視床投射細胞より高かった。脱分極電流パルスによって三者の発火応答を調べたところ、嗅周皮質投射細胞で発火周波数順応がはっきり見られたのに対して、視床投射細胞は比較的一定頻度で発火を続けた。最初の発火周波数が嗅周皮質投射細胞では電流強度に対して線型に増加したのに対して、視床投射細胞ではS字状に上がり、強い脱分極ではバースト様発火を示した。受動的性質・発火様式のパラメーターの主成分分析から、投射サブタイプごとに異なる電気生理的グループを作っていることが確認できた。

細胞内染色した上記の三種類の投射サブタイプで樹状突起形態を比較したところ、先端樹状突起は視床投射細胞で最も発達しており、基底樹状突起の拡がりには2/3層嗅周皮質投射細胞が最も狭かった。形態定量パラメーターを主成分分析すると、投射サブタイプと樹状突起分枝パターンがよく相関することがわかった。

ホールセル記録によるシナプス結合解析から、2/3層嗅周皮質投射細胞は5層嗅周皮質投射細胞と視床投射細胞にほぼ同じように結合することが分かった。5層から2/3層への結合は嗅周皮質投射サブタイプ間の一部だけに見られ、それには層間相互結合しているものもあった。このように層間ループ結合は特定の2/3層・5層嗅周皮質投射細胞の間で選択的に作られていることがわかった。結合タイプ間で

シナプス電流特性や結合細胞どうしの樹状突起・細胞体空間配置に違いは見られなかった。但し、シナプス遅延時間が5層から2/3層への結合で有意に長かった。

嗅周皮質投射細胞の細胞体からの距離に対する樹状突起長分布から、樹状突起が二つのコンパートメントから成ることがわかった。2/3層・5層嗅周皮質投射細胞結合ペアーでみると、シナプス後細胞上のコンタクト部位は細胞体から300ミクロン以内の近位樹状突起コンパートメントに作られていた

以上の結果から、前頭皮質から嗅周皮質への投射は、層分布・皮質下投射・内因的性質の異なる錐体細胞サブタイプから始まり、嗅周皮質の異なる領域へ選択的に投射する複数の経路からできていることが分かった。嗅周皮質投射細胞の皮質内層間結合は2/3層から5層への発散的フォワード結合と選択的バック結合からなっていた。この前頭皮質内フォワード結合と、嗅周皮質内フォワード結合である36野から35野、嗅内皮質への結合が領域間で逐次結合している一方、2/3層嗅周皮質投射細胞には扁桃体を介した間接的投射や35野への短絡的 direct 結合もみられた。これらから、皮質間結合錐体細胞は標的皮質領野内の異なる階層構造へ入力する複数のサブタイプに分化していることや、これらの皮質間投射サブタイプは起始皮質内においても発散性・選択性が異なるフォワード・バック結合していることが考えられた。

博士論文の審査結果の要旨

大脳皮質は機能や構造の異なる多様な領域からできており、領域間は選択的に相互結合している。皮質機能を理解するには、この皮質領野間結合の投射様式を明らかにし、皮質間結合を担う錐体細胞と皮質下構造へ投射する錐体細胞の局所回路内における相互作用を明らかにする必要がある。新皮質と海馬系皮質の連絡は陳述記憶の形成に重要であると考えられており、多くの場合、新皮質-嗅周皮質結合を介して行われる。申請者は本研究において、皮質領域間・皮質下投射結合に依存した新皮質局所回路分化を理解する為に、前頭皮質から嗅周皮質へ投射する錐体細胞の多様性と、それらの皮質内・皮質下結合選択性を調べた。

前頭皮質の錐体細胞投射サブタイプを同定し、その軸索分枝様式を明らかにする為に、一または二ヶ所の標的部位へ逆行性の蛍光トレーサーの注入を行った。嗅周皮質から逆行性標識される前頭皮質細胞は2/3層上部、5層上部、6層に分布していた。2/3層上部のものは嗅周皮質35野の吻側部に多く投射し、その一部は扁桃体にも投射していた。5層上部のものは嗅周皮質36野の吻側部に多く投射しており、対側線条体に投射する5層錐体細胞グループの一部であった。一方、5層上部では視床投射細胞もみられたが、嗅周皮質投射細胞とは重ならず、橋投射細胞グループの一部であった。

脳切片標本で逆行性標識された細胞からホールセル記録・細胞内染色して、2/3層と5層の嗅周皮質投射細胞、視床投射細胞の電気的性質と形態を比較した。投射サブタイプ間で静止膜電位と入力抵抗に違いが見られた。脱分極電流に対する応答では、嗅周皮質投射細胞で強い発火順応が見られたのに対し、視床投射細胞では最初のバースト様発火に続いて、一定頻度の発火が見られた。先端樹状突起は視床投射細胞で最も発達しており、基底樹状突起の拡がりも2/3層嗅周投射細胞が最も狭かった。

2種類の投射サブタイプから同時ホールセル記録することで、2/3層嗅周皮質投射細胞が5層の2つの投射サブタイプに対しほぼ同じ確率で結合することが分かった。5層から2/3層への結合は嗅周皮質投射サブタイプ間でだけ見られ、一部は双方向結合していた。

以上の結果から、前頭皮質から嗅周皮質への投射は、層分布・皮質下投射・内因的性質・皮質内結合様式の異なる錐体細胞サブタイプから始まり、嗅周皮質の異なる領域へ選択的に投射する複数の経路からできていることが明らかになった。

本研究は前頭皮質から嗅周皮質へ投射する錐体細胞の多様性と、それらの皮質内・皮質下結合選択性を丹念な手法で解析し、その結合の特異性と複数の経路の存在を明確に示した画期的な研究であり、大脳皮質の皮質間結合に関する理解を大きく進める研究として大いに評価できる。

その発見の重要性、論文の内容の明快さに鑑み、審査委員会全員一致で学位を授与するに値すると決定した。