

氏 名 牛丸 弥香

学位（専攻分野） 博士（理学）

学位記番号 総研大甲第 1354 号

学位授与の日付 平成 22 年 3 月 24 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 Firing patterns of neocortical and thalamic
neurons in the slow wave

論文審査委員 主 査 教授 南部 篤
教授 吉村 由美子
教授 木村 實（京都府立医科大学）

論文内容の要旨

大脳皮質の神経活動は睡眠・覚醒において大きく変わると考えられている。睡眠時の脳波は同期した徐波を示すのに対し、覚醒時には脱同期化する。徐波時には皮質細胞の膜電位は Up/Down と呼ばれる 2 つの膜電位レベルを変動しており、脳波でみられる徐波は、この皮質細胞の Up/Down リズムを反映したものであることが確立している。この 1Hz 以下の Up/Down 振動は皮質への入力を切り離しても起き、大脳皮質ニューロン、特に 5 層の錐体細胞の反回興奮結合で作られると想定されているが、詳細な生成メカニズムは未だよくわかっていない。徐波状態から脱同期化への遷移は大脳皮質の広い領域で同調して起きるが、その切り替えメカニズムについても殆ど分かっていない。

視床は大脳皮質から興奮性投射を受け、皮質へ興奮性入力を送るというループ結合を作っている。徐波 Up には 7 から 14Hz のスピンドル波が含まれ、この振動は視床で作られ皮質へ伝搬していることがわかっている。このように、Up は皮質で、スピンドルは視床で作られ、単一ニューロンにおける二つの振動現象の相互作用は機能的に重要と考えられるが、それについてもよく理解されていない。視床は大脳基底核から抑制性入力を受けており、これによる皮質・視床振動制御機構も重要であると予想される。

Up やスピンドルと関係する、前頭皮質 5 層や視床には軸索投射様式が異なる複数のニューロングループが存在する。皮質 5 層には、視床や基底核系と関係した二種類の主要な錐体細胞サブグループがある。一つは同側の視床に投射し殆どが同側線条体に側枝を出し脳幹まで下降する軸索を持つ皮質視床投射 [corticothalamic (CTh)] 細胞で、もう一つは対側線条体に投射し殆どが同側線条体にも側枝を出す、視床や脳幹には軸索を伸ばさない交差性皮質線条体投射 [crossed-corticostriatal (CCS)] 細胞である。視床は、皮質中間層に投射するコア領域と、表層投射しカルシウム結合蛋白質のカルバインディン (CB) を発現するマトリックス領域の大きく 2 群に分けられ、小脳核から入力のある VL (ventro-lateral) 核はコア領域に、基底核入力を受ける VA/VM (ventro-anterior /ventro-medial) 核はマトリックス領域に属する。

そこで彼女は、皮質・視床ニューロンタイプごとに皮質 Up/スピンドル生成や脱同期化機構への関与が異なると考え、発火の振動・脳状態依存性をタイプごとに比較検討した。

抱水クロラール麻酔したラット前頭皮質 5 層からガラス電極で局所電場電位を記録し、徐波・脱同期化状態を同定した。電場電位の 20 から 100 Hz 成分を利用することで、徐波内の Up と Down を時間的に分離した。CTh 細胞は同側視床の、CCS 細胞は対側視床の電気刺激による逆行性応答で同定した。視床は、カルバインディン (CB) 蛍光免疫染色パターンから以下の 4 つの領域に分けて解析を行った。(1) CB 陽性腹側部 [ventral CB-positive, vCB(+); VA/VM 核を含む。]; (2) CB 陰性中間部 [CB-negative region, CB(-); VL 核を含む。]; (3) CB 陽性背側部 [dorsal CB-positive (dCB(+)); (4) 視床網様核 [reticular nucleus (Rt)]。

徐波時の発火頻度は、皮質内・視床内ではそれぞれサブタイプによらず比較的一定であった。脱同期化すると、CCS 細胞と CB(-) 領域の VL 細胞では発火頻度を上げるものが多いのに対して、CTh 細胞と vCB(+) 領域では下げるものが多かった。Rt 細胞では一定の傾向は見られなかった。徐波時には、皮質 5 層細胞ではバースト発火が少ないのに対して、視床細胞の多くがバースト発火していた。但し、視床でも Rt 細胞はあまりバースト発火しなかった。

Up/Down リズムと発火の関係では、皮質細胞が Down で殆ど発火しないのに対して、視床細胞では Down 発火が少なからずみられた。視床細胞は皮質細胞に比べて Up 内での発火時期特異性が高か

った。皮質細胞では CCS 細胞より CTh 細胞に時期特異性が高いものが比較的多く見られた。視床では、Up 前半に偏って発火する細胞が vCB(+) 領域に多く見られ、その中には Up 立ち上がりで発火頻度を選択的に上げるものがあつた。Down での発火においても、vCB(+) 領域細胞の方が CB(-) 領域細胞に比べて Down 後半に選択的に発火していた。

発火頻度の脳波状態依存性と Up 内発火タイミング特性を組み合わせると、vCB(+) 領域に徐波活性化型かつ Up 前半発火型細胞が多く見られた。

視床核の中では、CB(-) 領域で皮質スピンドル振動と同期して発火するものが少なく、同期も弱い傾向が見られた。CTh 細胞にもスピンドルと同期して発火するものが見られたが、その発火位相は視床細胞とは有意に異なっていた。

以上の観察から、発火の脳波状態依存性や、徐波におけるスパイクバースト、Up 内発火選択性、スピンドル波との発火同期性・位相が、前頭皮質・視床を構成するニューロンタイプによって異なることがわかつた。特に、CTh 細胞と CCS 細胞という、基底核入力部である線条体に投射する二種類の錐体細胞サブタイプの活動が異なる脳状態依存性を示すことや、基底核出力部から抑制を受ける視床核の発火が Up・スピンドルリズムと密接な関係があることから、前頭皮質・基底核・視床ループが、睡眠時における脳波リズム形成や睡眠・覚醒転移において重要な役割をしていると考えられる。

大脳皮質の神経活動は、睡眠と覚醒において大きく変わる。睡眠時の脳波は同期した徐波を示すのに対し、覚醒時には脱同期化する。徐波時に皮質細胞で見られる膜電位の Up (脱分極) /Down (過分極) リズムは、皮質への入力を切り離しても起き、大脳皮質ニューロン、特に V 層の錐体細胞の反回興奮結合で作られると想定されているが、その詳しい生成メカニズムは不明なことが多い。一方、視床は大脳皮質から興奮性投射を受け、皮質へ興奮性入力を送るといった相互結合を作っている。徐波 Up 時には 7-14 Hz のスピンドル波が含まれており、この振動は視床で作られ皮質へ伝搬していることがわかっている。このように皮質と視床の相互作用は機能的に重要であると考えられるが、詳細はよくわかっていない。

そこで本研究では、大脳皮質および視床ニューロンが、どのように皮質 Up/スピンドル生成や脱同期化に関与しているのか明らかにするため、麻酔下ラットより前頭皮質ニューロン、視床ニューロンの細胞外記録を行なった。また、徐波/脱同期、Up/Down などの脳状態を調べるため、皮質脳波や皮質局所フィールド電位も同時記録した。さらに、これらのニューロンをいくつかのサブタイプに分類し、発火の様子や脳状態による変化を比較検討した。皮質 V 層では、視床へ投射する錐体細胞と、対側線条体へ投射する錐体細胞の 2 種類を同定し、視床ではカルシウム結合タンパク質のカルビンディン (CB) の免疫反応性を元に (1) 腹側 CB 陽性部 (VA/VM 核を含む); (2) CB 陰性中間部 (VL 核を含む); (3) CB 陽性背側部; (4) 視床網様核の 4 領域に分けて解析した。

徐波での発火頻度は、皮質内・視床内ではそれぞれサブタイプによらず比較的一定であったのに対して、脱同期化すると、線条体投射ニューロンと CB 陰性の VL 核ニューロンでは発火頻度が上昇するものが多く、視床投射ニューロンと腹側 CB 陽性領域では減少するものが多かった。徐波時のバースト発火は視床ニューロンの多くで見られたのに対して、皮質 V 層ニューロンでは少なかった。視床ニューロンは皮質ニューロンと比べて、Up 内で時期選択的に発火することが多かった。特に、腹側 CB 陽性領域のニューロンには、Up の立ち上がり付近で特異的に発火するものがみられた。視床ニューロンの多くが皮質で記録したスピンドル振動と同期するが、CB 陰性中間部のニューロンではその割合が少なく、同期も弱かった。視床投射錐体細胞にもスピンドルと同期して発火するものがあつたが、その発火位相は視床ニューロンとは有意に異なっていた。

以上の観察から、発火の徐波脱同期化依存性、バースト様式、Up 内時期選択性、スピンドル波との同期性・位相が、前頭皮質・視床を構成するニューロンタイプによって異なることがわかった。同一領域内でも異なるサブネットワークごとに振動特性や脳状態依存性が異なり、異なる領域のサブネットワーク間に選択的な結合が作られている可能性がある。基底核から抑制を受ける腹側 CB 陽性領域における特異的な発火特性は、前頭皮質・基底核・視床ループが、運動制御のみならず、睡眠・覚醒転移や徐波リズム形成において重要な役割を果たしていることを示唆している。

以上、本研究は、大脳皮質の睡眠・覚醒のリズム形成における大脳皮質—視床の相互連絡の役割を詳細に検討したものである。実験方法は適切に考えられ、導かれている結論も妥当であり、それらは明快かつ平易な英語で記載されている。これらのことから本論文は、学位論文として十分にふさわしい内容であるものと結論された。