

## 聴覚神経回路機能構築のイメージングによる解析

研究代表者：伊藤 哲史（医学部・助教）  
共同研究者：池田 弘（工学研究科・教授）

概 要	
	音情報は多数の神経核によって特徴が抽出される。抽出された情報が収束する下丘で音情報が統合され、機能地図として空間的に符号化されると考えられるが、複雑な音に対する機能地図の存在は不明であった。下丘局所回路での機能構築を調べるため3つの実験を行った。第1に、 <i>in vivo</i> カルシウムイメージングによって下丘表層には周波数についての機能構築が存在することが示唆された。第2に、 <i>c-fos</i> 遺伝子の発現を利用することで、細胞種ごとに機能地図の形に違いがある可能性が示唆された。第3に近傍記録・染色法によって下丘の3種類の細胞種が音刺激に対してどのような応答性を示すか調べた。これらのイメージング技術を組み合わせて下丘での情報処理、情報統合の仕組みを可視化することが可能であると考えられる。
関連キーワード	聴覚、 <i>c-fos</i> 、カルシウムイメージング、神経回路

### 研究の背景および目的

感覚神経回路において類似した刺激に応答する細胞が近くに配置する傾向がある。これを機能地図といい、その同定は神経回路の機能を知る上で本質的に重要である。時間変化を伴う複雑な音は自然環境中に満ちていて、それを検出する能力は生存上重要である。そのような音の特徴は脳内に機能地図のかたちで埋め込まれているのだろうか？

音の時間変化について検出する神経回路が聴覚系に存在することはわかっている。下丘は下位の聴覚神経核で並列処理された聴覚情報が初めて収束する場所であり、FM音などの複雑音に特異的に応答する細胞が出現する。下丘には応答周波数に対する機能地図が存在することがわかっているが、それ以外の音の特徴（例えばFM音のような複雑音）に関する機能地図の存在についてはよくわかっていない。

下丘内部は複数のシナプスドメインに分かれていることが複数の研究によって示唆されている。

各々のドメインは異なる神経核からの入力を受け、異なる神経核は異なる種類の音の特徴をコードすることから、シナプスドメインの配列が周波数以外の機能地図を作ると考えられる。シナプスドメインの中のニューロンは興奮性細胞、大型抑制性細胞、小型抑制性細胞の少なくとも3種類に分類されることがわかっている (Ito and Oliver, 2012)。このうち、大型抑制性細胞 (Ito et al., 2009) は近隣のシナプスドメインの興奮性細胞から入力を受ける (投稿中) ことによって、より複雑な応答を作り出すことが想定されている。つまり、下丘の機能地図を考える際には、単に細胞の位置のみならず、細胞の種類も考慮するべきではないだろうか？

本研究は、局所神経回路の形態学的分析に加え、下丘の興奮性と抑制性細胞集団の活動を機能イメージング技法によって調べる。これによって大型抑制性細胞の聴覚情報処理における役割が解明することを目的とする。

### 研究の内容および成果

下丘の局所神経回路の構築とその機能を解明するため、以下に挙げる3種類の実験を行った。

#### 1: *in vivo* カルシウムイメージングによる下丘表層の機能構築の解明

昨年度までの研究によって、マウスの下丘表層の多数の細胞から同時に安定した記録を取る技法の開発に成功した。5匹のマウスから計113個の細胞の音刺激に対する応答の記録に成功した。どの

細胞もノイズに対して強い応答を示した。様々な周波数の純音に対する応答を調べたところ、ほとんどの細胞が10kHz以下という、マウスにとってかなり低い高さの音に対して強い応答を示した。さらに、図1で示されるように、同じ最大応答周波数を持つ細胞は集塊をなしており、下丘表層に周波数についての機能構築が存在することが示唆された。一部の細胞について、周波数-音圧受容野

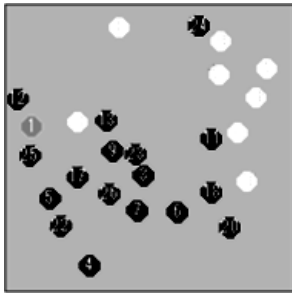


図 1: 下丘表層ニューロンの 70dB 純音に対する応答性の違い。白は 10366Hz、黒は 7849Hz、灰色は 5943Hz に対して最大の応答を示した。同様の応答性を示す細胞が集塊をなしていることがわかる。

の記録に成功した。すべての細胞が、聴覚系ニューロンの基本応答である V 字型の受容野を有していた。下丘皮質のより深層のニューロンには奇妙な特性を持ったものが多いことと比較して、これは意外な結果であった。

## 2: c-fos 分子発現を利用した大型抑制性ニューロンの刺激選好性についての研究

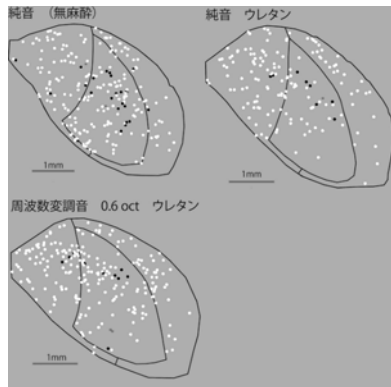


図 2: 様々な 9kHz を中心周波数を持つ様々な音刺激によって誘発された c-fos の発現。白が興奮性細胞、黒が大型抑制性細胞、灰色が小型抑制性細胞である。興奮性細胞が下丘の幅広い領域に分散して観察された一方、大型抑制性細胞は集塊をなしていた。

ラットを防音箱に入れ、120 分間 9 kHz を中心周波数を持つ様々な音刺激を 60 dB SPL の音圧で提示した。音刺激の違いによる c-fos 発現活動細胞の種類比率の違いは見られなかったが、活動細胞の空間分布には細胞種の違いが反映された。図 2 で示すように、興奮性細胞 (白) は下丘

全体で活動が見られたのに対し、大型抑制性細胞は下丘中心核のやや表層よりの領域で活動が強く見られた。先行研究からこの領域は 9kHz に応答する領域であると考えられた。このことから、大型抑制性細胞は下丘の周波数選択性に何らかの関与をしていることが示唆された。

## 3: 近傍記録・染色法による大型抑制性ニューロンの音刺激応答性についての研究

ガラス電極に蛍光色素を詰め、細胞外記録後に色素を電気泳動することで、音刺激応答性を確認した細胞を形態学的に再同定することができる。免疫染色と組み合わせることで、標識細胞が大型抑制性細胞、小型抑制性細胞、興奮性細胞の何れに該当するか同定を行った。図 3 は標識細胞の例であるが、興奮性細胞が鋭い周波数選択性を有していた一方、大型抑制性細胞は複雑な受容野を有しており、周波数情報の統合を行っていることを示唆する。

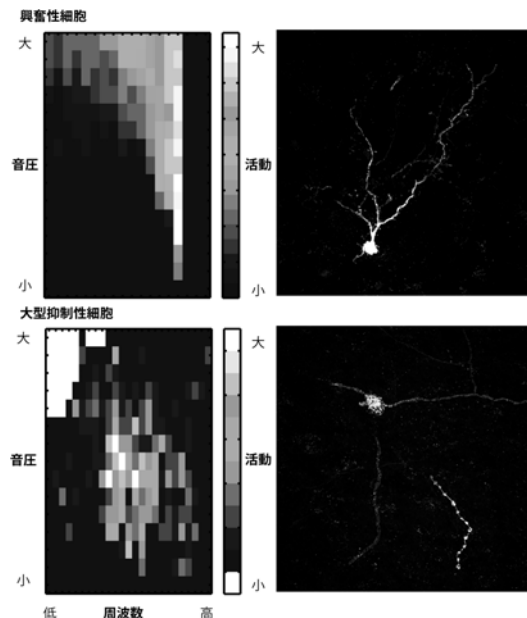


図 3: 近傍記録・染色法によって標識した細胞の周波数-音圧受容野 (左列) と樹状突起形態 (右列) 上段は興奮性細胞であり、標準的な V 字型受容野を有する。下段は大型抑制性細胞であり、周波数選択性の低い、島状の受容野を有していた。

## 本助成による主な発表論文等、特記事項および競争的資金・研究助成への申請・獲得状況

### 「主な発表論文等」

廣瀬 潤一、伊藤 哲史、村瀬 一之、池田 弘 「生体マウスの下丘表層における音刺激に対する神経活動：カルシウムイメージングによる解析」 2013 年 日本神経科学学会

廣瀬潤一 「Ca<sup>2+</sup>イメージングによる生体マウスの下丘表層細胞の音刺激に対する活動」、2013 年 日本生体医工学会北陸支部大会

廣瀬潤一 平成 25 年度工学部修士論文

大谷仁志 平成 25 年度工学部卒業論文

### 「競争的資金・研究助成への申請・獲得状況」

科学研究費 基盤 (C) 「かたちから探る聴覚情報統合のしくみ」代表 採択

第 27 回 ノバルティス研究奨励金 「かたちから探る聴覚情報統合のしくみ」 採択