

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：故 池田 弘（工学研究科・教授）、村瀬 一之（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、下丘表層の神経回路をさまざまな機能イメージング技法によって解析した。下丘表層には同心円状の相互結合回路があり、局所回路の活動が遠方への神経活動伝播効率を高めることや、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判明した。第2に近傍記録・染色法によって下丘の細胞形態と音刺激応答性との関連を見出した。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、電位イメージング、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。また、下丘は細胞種によって音に対する応答性が異なると考えられるので、下丘の機能地図を細胞種も考慮しつつ検討するのが当研究の目的である。

研究の内容および成果

実験1：機能イメージングによる下丘表層神経回路機能構築の解明

実験1については、池田教授の研究費（科研費若手研究A）を元手に抑制性ニューロンにCHR2が特異的に発現するVGAT-CHR2マウスを導入し、更にこの実験系に習熟した小野宗範博士（コネチカット大学）を招聘する予定であった。しかし、2014年8月の池田教授の急逝に伴い、研究費は凍結、召し上げとなってしまい、マウスの導入や研

究者の招聘は白紙となった。このため、実験計画の見直しを行った。まず、VGAT-CHR2マウスに替え、当研究グループでの蓄積のあるCa²⁺イメージングに有用なThy1-GCaMP3マウスを輸入した。研究費切り替えに伴い導入時期が真冬にずれ込んでしまい、このためマウスの繁殖が抑制されてしまったが、現時点で20匹程度の組み換えマウスを得ることができたので、来年度はこのマウスを用いて実験を行うこととする。

電位感受性色素でマウス下丘表層スライスを負荷し、電気刺激に対する神経活動を計測した（申請書の実験 1-1）。表層部を刺激したところ、神経活動は周縁部を伝播し、更にこの伝播の効率は局所神経回路によって増幅されることが薬理的に明らかになった。この実験結果は下丘表層の神経回路は同心円状の相互結合を有することを示唆しており、これは次項で述べる生体マウスでの機能構築とも一部合致する。次年度はこの内容を更に検討する。

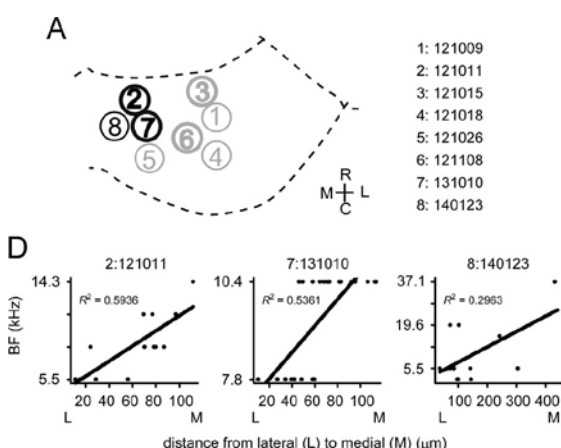


図1 下丘表層の機能構築。A:記録を行った部位。黒字の部位ではトノトピー構築が確認できた。D:トノトピー構築の確認された3領域では、細胞の内側-外側の座標と最適周波数の間に相関が見られた（論文[1]より引用）。

生体マウスの下丘表層に蛍光カルシウム指示薬 OGB-AM を負荷し、音刺激に対する下丘表層回路の応答性について検討を行った（申請書の実験 1-2）。前年度までに下丘表層に応答周波数に対する機能構築の存在が示唆されていたので、今年度は今までのデータを総合的に検討し、機能構築の有無について検討した。

音刺激に対する応答を得ることをできた 8 匹の

動物から、162 個の細胞の様々な音に対する活動を解析することができた。ほとんどの細胞が広帯域雑音と純音に対して応答性を示した。多くの細胞の最適周波数は 10kHz 程度であり、これはマウスの可聴域(1-100kHz)からみてかなり低い。個々の細胞の受容野を検討するとさまざまな応答性のもがあり、これは下丘皮質の他の層で報告されたものと類似する。ついで、これらの音刺激応答性と細胞の空間的配列との間の相関を解析した。音刺激に対する応答波形は近傍の細胞で類似する傾向が見られた。このことから、最適周波数と細胞の配置を解析したところ、下丘表層の内側部では、より内側の細胞が高い最適周波数、より外側の細胞が低い最適周波数を有する、トノトピー構築の存在が示唆された（図 1、論文[1]）。

実験 2：下丘単一ニューロンの機能形態学

下丘には大型抑制性ニューロン、小型抑制性ニューロン、興奮性ニューロンが存在し、それらの細胞が相互結合して作られる局所回路（論文[2]）が音刺激に対する応答性を新規に作り出すことが示唆される。これまでの研究から 3 種の神経細胞は異なる形態を有し、音刺激に対する応答性が異なり、下丘の機能構築に果たす役割が異なる可能性が示唆される。本年度も先年度に引き続き、近傍記録・染色法(Pinault, 1996)を用いて、単一ニューロンの音刺激に対する神経活動記録と、その樹状突起、軸索展開の関連について解析を行った。大型抑制性ニューロン 16 個、小型抑制性ニューロン 3 個、非抑制性ニューロン（興奮性であろうと思われる）70 個、計 89 個の音刺激応答性について検討した。まず、下丘の音刺激応答性は極めて多様性に富んでおり、このため多くの音刺激に対する特徴的な応答は細胞種との関連が見られなかった。有意に違いがみられた特徴として、大型抑制性ニューロンは音刺激に対する潜時が短く、より幅広い周波数受容野を有することが挙げられる。大型抑制性ニューロンは細胞体上に密な興奮性入力を受けており、樹状突起が下丘内の周波数地図を横切っていた。密な細胞体上の興奮性終末は短い潜時と、樹状突起の形態は幅広い周波数受容野と関係があると考えられる。

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」

[1] Ito T, Hirose J, Murase K, Ikeda H. Brain res 1590 45-55 2014 年 11 月

[2] Ito T, Oliver DL. J Comp Neurol 522 3539-3554 2014 年 10 月

「特記事項」

2014 年 8 月の池田教授逝去に伴い、残された学生（博士課程 1 名、修士課程 4 名、学部学生 5 名）の研究指導を行い、今年度は 5 名の卒業論文執筆の監督を行った。なお、伊藤は本研究の内容で 2014 年解剖学会奨励賞を受賞した。

「競争的資金・研究助成への申請・獲得状況」

科学研究費・基盤研究 C 2013-2015 年度 「かたちからさぐる聴覚情報統合のしくみ」代表・伊藤哲史 採択 70 万円（2014 年度分）

科学研究費・新学術領域（公募）代表・村瀬一之 2 件応募中

ノバルティス科学振興財団・研究助成金・2014 年度「かたちからさぐる聴覚情報統合のしくみ」代表・伊藤哲史 採択 100 万円