

小脳全体の活動を調節する神経回路の解明

～小脳の高次機能解明への貢献に期待～

ポイント

- ・小脳ルガロ細胞を可視化するマウスの作成に成功。
- ・小脳活動を強力に調節しうる新規神経回路の同定。
- ・セロトニンによる小脳活動調節の回路基盤の解明。

概要

北海道大学大学院保健科学研究院の宮崎太輔准教授らの研究グループは、慶応義塾大学医学部・田中謙二准教授、北海道大学大学院医学研究院の渡辺雅彦教授らとの共同研究により、小脳ルガロ細胞が蛍光を発する遺伝子改変マウスの作成に成功しました。

ルガロ細胞は小脳に存在する多様な抑制性介在ニューロンの1つですが、どのような神経回路を作っているかという基盤情報は不十分なままでした。研究グループがマウスを使ってルガロ細胞の神経回路を調べたところ、ルガロ細胞は興奮性・抑制性・セロトニン作動性の多様な神経入力を受けていることがわかりました。これらの入力を受取るルガロ細胞の樹状突起同士は互いに結合して網目構造を作り、この網目構造がバンド（小脳帯状構造）*1と呼ばれる小脳の機能単位となる帯域とほぼ一致して広がっていました。ルガロ細胞からの軸索出力は、同一帯域内に存在する他の抑制性介在ニューロン（バスケット細胞、星状細胞、ゴルジ細胞）を強力に支配していました。これらの標的ニューロンは、小脳活動を作り出すプルキンエ細胞*2や顆粒細胞を抑制する介在ニューロンであることを考えると、ルガロ細胞は帯域内の多様な抑制性介在ニューロンの統合的立場にあり、ルガロ細胞の活動は他の抑制性介在ニューロンの抑制（脱抑制）を介して小脳活動の生成や亢進へ導くことを示唆します。

また、ルガロ細胞の活動はセロトニンにより強力に調節されていることが知られていましたが、今回、ルガロ細胞はセロトニン作動性軸索の選択的標的として非シナプス性接着を密に形成していることも発見しました。セロトニンには睡眠・覚醒、心の安定、生体リズム、体温調節など多様な生理作用があり、セロトニンニューロンの活動性は個体の置かれた状況に応じて変化することが知られています。したがって、ルガロ細胞は小脳のセロトニンセンサーとして機能し、今回明らかになった特徴的な神経回路を介して、状況に応じた小脳帯域の活動性制御と小脳による高次機能の発現に貢献するものと考えられます。

本研究成果は、2020年5月26日（火）公開のNeuroscience誌にオンライン掲載されました。

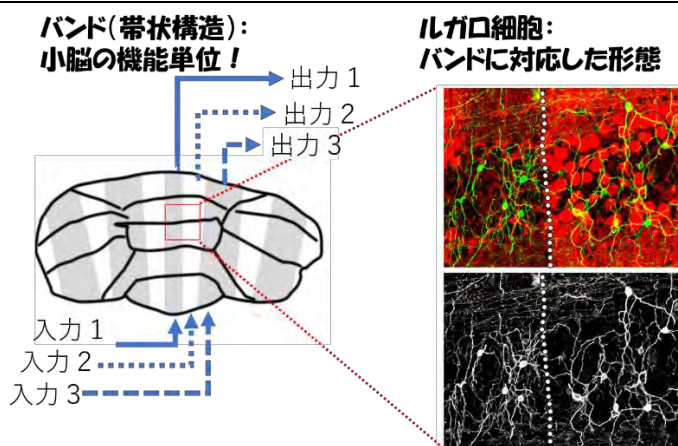


図. 小脳帯域とルガロ細胞の分布

アルドラーゼCを発現するプルキンエ細胞（図右上：右側の赤い円形細胞）と発現しない細胞は交互に並ぶ帯域を形成する（図左）。ルガロ細胞（図右上：緑，図右下：白）は同一帯域内に樹状突起を広げて相互に連結し、網目状の入力を受取る構造を作る。

【背景】

小脳皮質には皮質内の出力を行うプルキンエ細胞と、この神経活動を調節する数種類の抑制性介在神経細胞^{*3}があります。ルガロ細胞は特徴的な形態をもつ抑制性介在神経細胞として知られていましたが、選択的に可視化する方法がなく、顕微鏡で観察することは困難でした。

そのため、ルガロ細胞の研究はあまり進んでおらず、どのような神経回路を形成し、小脳活動にどのように関わっているかなど基盤情報については不明な点が多く残されていました。

【研究手法】

本研究では、ルガロ細胞を高い効率で標識する新規遺伝子改変マウスを作成しました。このマウスを用いて in situ ハイブリダイゼーション法^{*4}・免疫染色法・免疫電子顕微鏡法^{*5}・単一神経標識法^{*6}を用いて、ルガロ細胞の神経解剖学的特性を明らかにしました。

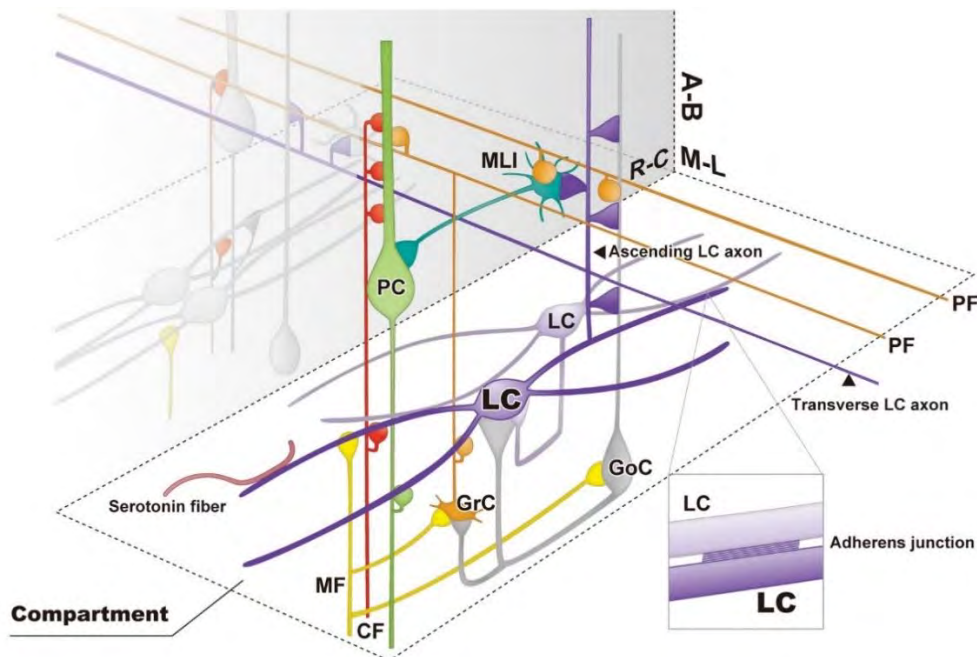


図 1. ルガロ細胞の入出力様式

ルガロ細胞 (LC) はバンド構造内 (Compartment) 内で接着構造を介した網目構造を形成している。この構造により、バンドに対応した脳幹からの興奮性投射 (MF, CF) や小脳皮質内からの抑制性投射 (PC, MLI, GoC, LC) を受けている。セロトニン線維 (serotonin fiber) はルガロ細胞樹状突起と近接して液性伝達による神経支配を行っていると考えられる。一方、ルガロ細胞からの出力は小脳皮質の抑制性介在神経細胞 (MLI, GoC) を支配しており、その支配様式はバンド内への強い投射を行う線維 (ascending LC axon) と複数のバンド間への広い投射を行う線維 (transverse LC axon) の 2 種類が存在していた。

【研究成果】

小脳は前後軸に伸びる帯状構造を作ることが知られています。バンドと呼ばれるこの構造は小脳の機能単位として働き、固有の入出力回路を持っています。しかし、同一バンド内のプルキンエ細胞 (出力細胞) が同じタイミングで発火しないと小脳外まで伝わる出力信号にはならないことが知られています (1 ページ目図・左)。今回の研究から、バンドに対応したルガロ細胞の特徴的な細胞構築 (1 ページ目

図・右)と回路構築(図1)が明らかとなりました。ルガロ細胞が入力を受け取る樹状突起と細胞体は互いに結合した網目構造を形成してプルキンエ細胞直下に広がり、これがバンド間の境界まで広がっていました。この網目構造が、脳幹や小脳顆粒細胞からの興奮性入力、小脳皮質内からの抑制性入力、脳幹からのセロトニン入力など、多様な神経入力を受けていました。

一方、ルガロ細胞からの軸索出力は分子層に向かい、そこに分布する他の抑制性介在神経細胞群(バスケット細胞、星状細胞、ゴルジ細胞)を標的としていました。その支配様式には2種類が見られ、特定のバンド内の標的細胞を「強力的に」支配する上行線維と、複数のバンドを超えて「薄く、広く」支配する横行線維から構成されていました。このような入出力関係から、ルガロ細胞は特定のバンドに到来する多様な神経入力を統合し、その結果生成されるルガロ細胞の活動は一義的には同一バンド内の他の抑制性介在神経細胞を強力的に抑制し、さらなる活動性の増強により周囲のバンドへも抑制が広がっていく可能性を物語ります。この「抑制性介在ニューロン選択的な抑制性介在ニューロン」という回路構築学上の特徴は、ルガロ細胞が他の抑制性介在ニューロンの抑制を介してプルキンエ細胞や顆粒細胞を脱抑制することで、小脳活動の生成や亢進へと効果的に導く細胞機能を示唆します。

多様な生理作用を有する神経伝達物質のセロトニンはルガロ細胞に対して強力な発火作用をもつことが知られています。今回の研究から、セロトニン作動性線維はルガロ細胞の細胞体や樹状突起に近接したり巻き付いたりして、電子顕微鏡で観察すると非シナプス性の密着構造を多数形成していることが判明しました。この密着により、セロトニン放出が起こればルガロ細胞周囲のセロトニン濃度が急峻に上昇し、ルガロ細胞の興奮性を効果的に調節していると考えられます。したがって、ルガロ細胞は小脳のセロトニンセンサーとして機能し、抑制性介在ニューロン選択的な抑制性介在ニューロンという特異な細胞特性を介して、状況に応じた小脳帯域の活動性制御と小脳高次機能の発現に貢献するものと考えられます。

【今後への期待】

これらの研究成果は、ルガロ細胞が小脳全体の活動調節に関わる重要なニューロンである可能性を強く示唆します。また、セロトニンには睡眠・覚醒、心の安定、生体リズム、体温調節など多様な生理作用があり、セロトニンニューロンの活動性は個体の置かれた状況に応じて変化することが知られていることから、ルガロ細胞は小脳神経回路におけるセロトニンセンサーとして機能することで、個体の置かれた状況に応じた小脳の活動性制御と小脳高次機能の発現に貢献するものと考えられます。

今後は今回得られた解剖学的知見を手がかりとして、ルガロ細胞を中心とする神経回路が個体レベルでどのように機能しているかを明らかにしていく予定です。

論文情報

論文名	Compartmentalized input-output organization of Lugaro cells in the cerebellar cortex (帯状構造に対応した小脳ルガロ細胞入出力様式の解明)
著者名	宮崎太輔 ^{1,2} , 山崎美和子 ² , 田中謙二 ³ , 渡辺雅彦 ² (¹ 北海道大学大学院保健科学研究所リハビリテーション科学分野, ² 北海道大学大学院医学研究所解剖発生学教室, ³ 慶應義塾大学医学部精神神経科学教室)
雑誌名	Neuroscience (神経科学の専門誌)
DOI	10.1016/j.neuroscience.2020.05.026
公表日	2020年5月26日(火)(オンライン公開)

お問い合わせ先

北海道大学大学院保健科学研究院 准教授 宮崎太輔 (みやざきたいすけ)

T E L 011-706-3330 メール miyazaki@med.hokudai.ac.jp

U R L <https://www.hs.hokudai.ac.jp/archives/staff/21467/>

配信元

北海道大学総務企画部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北 8 条西 5 丁目)

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール kouhou@jimu.hokudai.ac.jp

【用語解説】

- *1 バンド (小脳帯状構造) … 小脳皮質は前後軸に伸びるいくつもの帯状構造 (バンド) が左右軸に重なって構成されている。個々のバンドに特有な分子発現や神経投射様式があることから、バンドは小脳の機能単位であり、小脳からの出力はそれぞれのバンドからの出力の組み合わせと考えられている。
- *2 プルキンエ細胞 … 小脳皮質の出力細胞。その活動は抑制性介在細胞によって調節され、バンド内のプルキンエ細胞群の活動が同期することで小脳外まで到達する出力となる。
- *3 抑制性介在神経細胞 … GABA (γ -アミノ酪酸) を伝達物質とし、プルキンエ細胞など標的細胞の膜電位を過分極させて活動を抑制させる働きを持つ。特定の神経領域の内部で、近距離を配線するために介在細胞と呼ばれる。
- *4 in situ ハイブリダイゼーション法 … mRNA (メッセンジャーRNA) の発現を組織切片上で検出する組織化学法。ある特定の遺伝子を発現している細胞種を同定することができる。
- *5 免疫染色法・免疫電子顕微鏡法 … 遺伝子発現をタンパク質の発現として捉える、抗体を用いた組織化学法を免疫染色法という。電子顕微鏡を用いた高解像度の分子検出を行う場合、免疫電子顕微鏡法という。細胞や組織内の分子の分布や局在を調べることができる。
- *6 単一神経標識法 … 蛍光物質などの遺伝子を神経細胞に導入して、一つの細胞の形態を明らかにする方法。