

〔総 説〕

大脳皮質錐体細胞の発火様式とその働き

姜 英男

北海道医療大学歯学部口腔生理学講座

(主任：姜 英男教授)

Heterogeneity of intrinsic firing pattern displayed in cortical
pyramidal neurons and their functional significance

Youngnam KANG

Department of Physiology, School of Dentistry,
Health Sciences University of Hokkaido

(Chief : Prof. Youngnam KANG)

Abstract

The regular spiking pattern has been demonstrated to change into a fast rhythmic bursting pattern in some pyramidal cells (Kang & Kayano, 1994). The fast rhythmic bursting pattern is presumed to play a crucial role in evoking the gamma-band EEG oscillation that emerges on cognition or on rehearsal of short-term memory (Gray & McCormick, 1996). Since the enhancement of depolarizing afterpotentials (DAP) appeared to be involved in the transformation of firing patterns, we investigated the ionic mechanisms underlying the DAP and its potentiation in pyramidal cells in rat frontal cortical slices using the whole-cell recording method. The generation of DAP was found to be mediated by a Ca^{2+} dependent cationic current (Kang, Okada & Ohmori, 1998). Furthermore, the Ca^{2+} dependent cationic current was found to be enhanced Ca^{2+} -dependently. This would be consistent with our previous observation that repetitive application of strong depolarization induced fast rhythmic burst firing as a consequence of an enhancement of DAP, because the intracellular Ca^{2+} concentration increases following repetitive strong membrane depolarization.

Key words : Pyramidal cell, Gamma-band EEG, Depolarizing afterpotential, Ca^{2+} -dependent cationic current, Fast rhythmic burst.

受付：平成13年9月28日

1. 大脳皮質錐体細胞の発火様式による分類

大脳皮質の錐体細胞は、スライス標本を用いた電気生理学的研究により、脱分極パルス通電に対する応答の発火パターンに基づいて3種類に分類されている¹⁾。持続の長い脱分極パルスの間、単一発火を繰り返す錐体細胞はRegular spiking (RS) ニューロンと呼ばれ、それらはさらに、スパイク間隔が一定に止まるものとその間隔が増加していくもの、つまり、Frequency adaptationを示さないもの(図1a)と示すもの(図1b)との2種類に分けられる。一方、バースト発火を示す錐体細胞の存在も知られており、Intrinsically Bursting (IB) ニューロン(図1c)と呼ばれている。こうした3種類の発火パターンはニューロンに発現しているNa, K, Caチャネル等の内因的膜特性の働きの結果生じたものであるもので、多少の修飾は受けるものの、

ニューロン固有のほぼ固定的性質であると考えられ、分類の基準として用いられてきた。ところが、こうした考えが必ずしも成立しないことが最近明らかになりつつある。

2. ガンマ帯脳波とガンマ・バーストニューロンの発見

最近、バースト発火を速いリズム(40Hz)で繰り返す、所謂、Chattering neuron或いはFast rhythmic bursting (FRB) neuronの存在がWhole animalを用いたin vivo標本で見出され、対象物の認知や短期記憶の再現時に発現するガンマ帯脳波の生成に関与するとして注目を集めている(図2)²⁾。図2には、ネコ視覚野のChattering neuronの例が示されている。光のバーを3秒間で受容野を横切るように提示した時のChattering neuronの応答パターンが図2

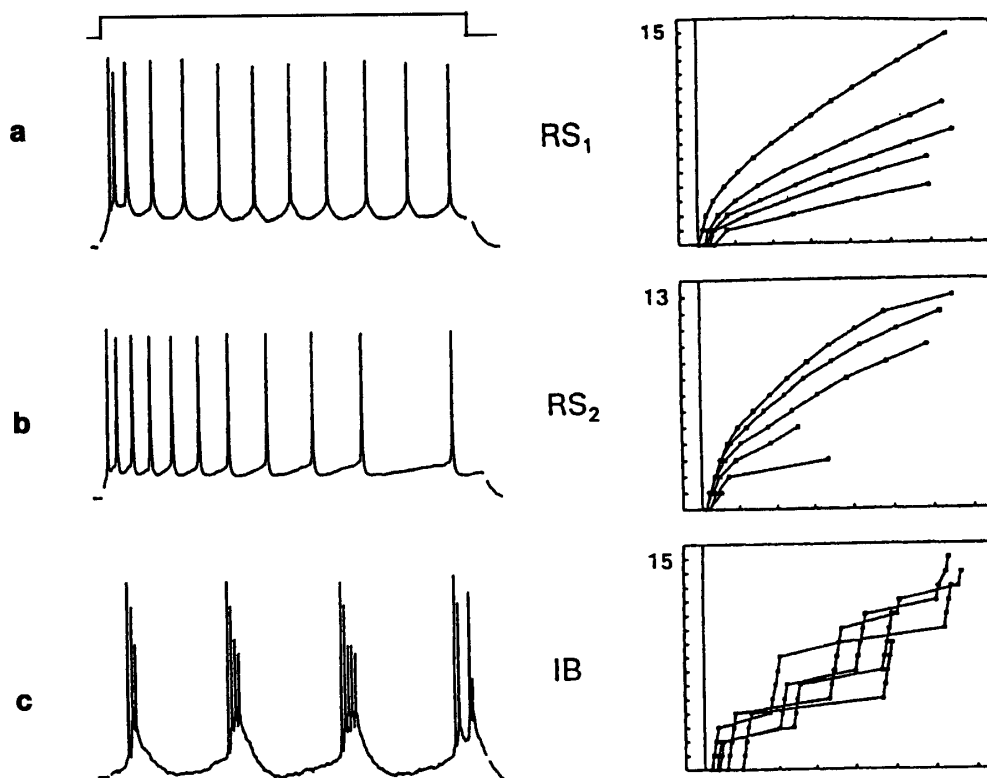
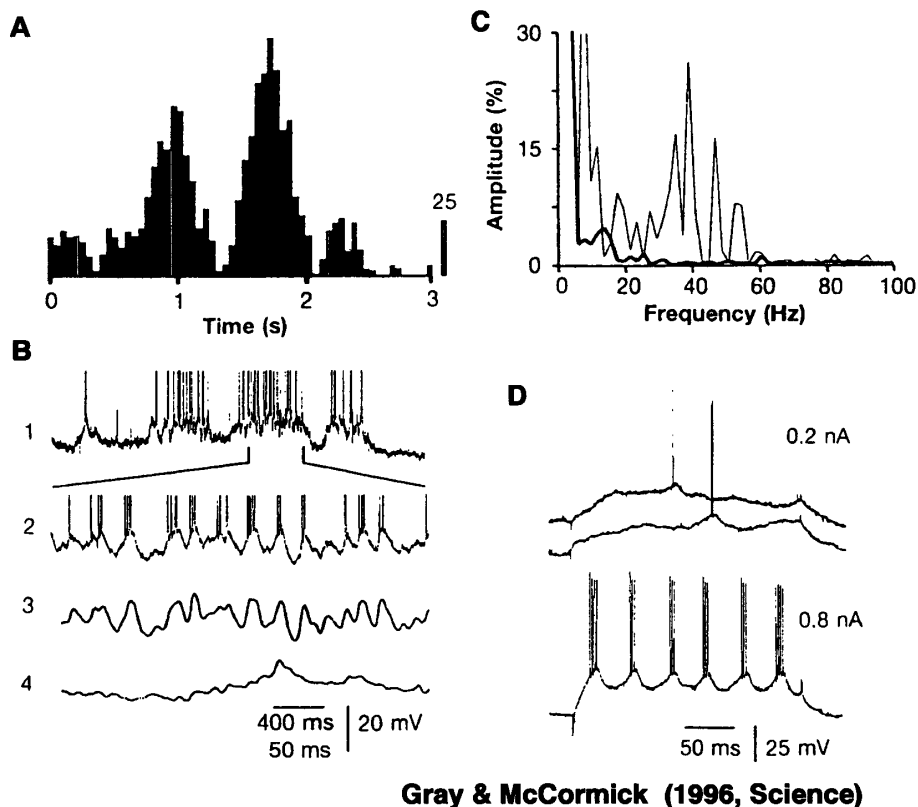


図1：錐体細胞の発火パターンによる分類

左のコラムは、脱分極パルス通電に対する応答を示す。a, bはRegular Spikingニューロンで、Frequency adaptation (FA)を示さないもの(RS₁)と示すもの(RS₂)がある。cはIntrinsically-Bursting (IB)ニューロンの例を示す。右のコラムは通電パルスの強さを変化させた時の応答で、スパイクが発生した時刻(横軸)に対してスパイクの順番(縦軸)をプロットしたもの。FAを示すものは、脱分極パルス通電の途中で、FAのためスパイク発火が生じなくなる。

B1に示されており、そうした応答を20回加算したヒストグラムが図2Aに示されている。この図から明らかなように、Chattering neuronは1秒以下のバースト・エピソードを数回繰り返している。その最も発火活動の高いエピソードの時間軸を拡大して示したのが図2B2で、ここでは、2～3発のバースト発火が高い頻度で反復して現れているのが認められる。この波形をメディアン・フィルターで活動電位を取り除いて示したのが図2B3であり、ここでは、律動的な膜電位の振動が認められる。図2B4は、最適光刺激が提示されていない時の膜電位応答を示している。このように、光刺激に反応して、膜電位の律動的振動が認められたが、フーリエ解析から、40Hzをピークとする20-60Hzの周波

数成分が顕著であった(図2C細線)。それに対して、最適光刺激が提示されていない時の膜電位応答のフーリエ解析では、そのような成分は検出されなかった(図2C太線)。また、このChattering neuronは、脱分極パルス通電に対しても、2～3発のバースト発火を40Hz程度の頻度で反復する応答を示し、典型的なChattering neuronとして分類された。このように、こうした発火活動が認められた時に、ネコは視覚刺激を認知したとされており、同じ光刺激に反応する他のニューロンの発火活動と同期化した活動を示すことから、長い一本の光バーのそれぞれの部分を認知するニューロン群の活動が同期化することにより、個々のニューロン活動が結合或いは統合され(Binding Problem)、「一本の



Gray & McCormick (1996, Science)

図2：Chatteringニューロンの応答特性

A, 光バーを提示している3秒間に、どの時点で発火活動を示したかのヒストグラムで、20回の応答を加算して表示。B1, 3秒間の実際の発火応答。B2, B1の2回目のバースト・エピソードのみを時間軸を拡大して表示。B3, B2記録からmedian filterにより活動電位を除去。律動的膜電位振動が認められる。B4, 光バーを提示していない時の同じニューロンの膜電位変化。C, B3(細線)とB4(太線)の膜電位変化のフーリエ解析によるパワー・スペクトラム。D, 異なる強さの脱分極パルス通電に対する応答。典型的なchattering発火、即ち、ガンマ・バースト発火が認められる。

光バー」という概念が形成されると考えられている。

この特徴的発火パターンは、脳切片を用いた *in vitro* 標本では見出されてこなかったが、後述するように Frequency adaptation を示さない RS 細胞のカテゴリーに属する錐体細胞が FRB を示すようになることが筆者により見出された³⁾。即ち、ニューロンの発火パターン自体はそれ程固定的なものではなく、状況に応じて変化する可能性があることが明らかになりつつある。

3. 脱分極性スパイク後電位

発火パターンによる分類とは別に、脱分極性スパイク後電位 (Depolarizing afterpotential; DAP) に着目した分類もなされている。脱分極性スパイク後電位とは、スパイクの再分極過程で、後過分極相に移行する直前に発生するノッチ状の小さな脱分極電位のことである (図 3 A)。特に、大脳皮質第 VI 層の錐体細胞は、DAP の有無と尖頭樹状突起の広がり が 相 関 して おり、2 種 類 に 分 類 さ れ て い る^{3,4)}。こ う し た DAP のイオン機構については、その電位変化の小ささ故かこれまで見過ごされてきたが、最近、その小さな DAP がバースト発火や chattering に関与していると考えられるようになり、俄に研究が進みだした。

IB ニューロンのバースト発火については、当初、カルシウム電流が担っているという報告が見られたが、現在では持続性ナトリウム電流がバースト発火を引き起こしているという説が有力である。実際、IB ニューロンでは、バースト発火自体はカルシウム電流を阻害しても生じることから、持続性ナトリウム電流が中心的役割を果たしていると考えられている^{5,6)}。しかしながら、最近の報告ではバースト時に著名な細胞内カルシウムの上昇が生じることから、カルシウム電流の関与も再考されている⁷⁾。こうした

これまでの報告を踏まえると、バースト中には持続性ナトリウム電流及びカルシウム電流が同時に活性化されており、その両方が IB ニューロン特有の大きな DAP の形成に関与しているというのが現時点での正しい理解であると筆者は考えている。IB ニューロンにおけるバースト発火には二つの際だった特徴が認められる。第一に、大きな DAP 様の脱分極電位に乗じてバースト発火が生じているため、DAP による電位の脱分極とともに活動電位が不活化しその振幅が小さくなる現象が認められる (図 3 B*)。第二に、バーストは顕著な (恐らくカルシウム依存性の) 後過分極電位 (afterhyperpolarization, AHP) により終止される (図 3 C 矢印)。一方、chattering 或いは FRB ニューロンでは、バースト発火の際の活動電位の不活化は微弱で、DAP も極めて小さなものである。In vivo の標本では、IB neuron, Chattering neuron とともに、しばしば記録することが可能であったが、In vitro スライス標本では、IB neuron のみ記録され、Chattering neuron は記録されてこなかった。こうした結果は、スライス標本下では、何らかの neuromodulator が人工脳脊髄液により wash out され、そのために chattering mode のニューロンが見つからないのではないかと考えられてきた。こうした中で、筆者は唯一、スライス標本下で、chattering の発火パターンを誘発することに成功した。ネコ運動野大脳皮質第 VI 層の錐体細胞のうち、DAP を示すものは、Frequency adaptation を示さない RS 細胞に属する。こうした細胞において、繰り返し脱分極通電を行い発火させると、徐々に DAP が増強され、chattering の発火パターンを示すようになる。そうした chattering 発火モードでは、同じ強さの脱分極通電に対して、約 2 ~ 3 倍のスパイク数を発生するようになっている (図 4)³⁾。しかしながら、chattering を引き起こすイオン機構は依然として不明であった。

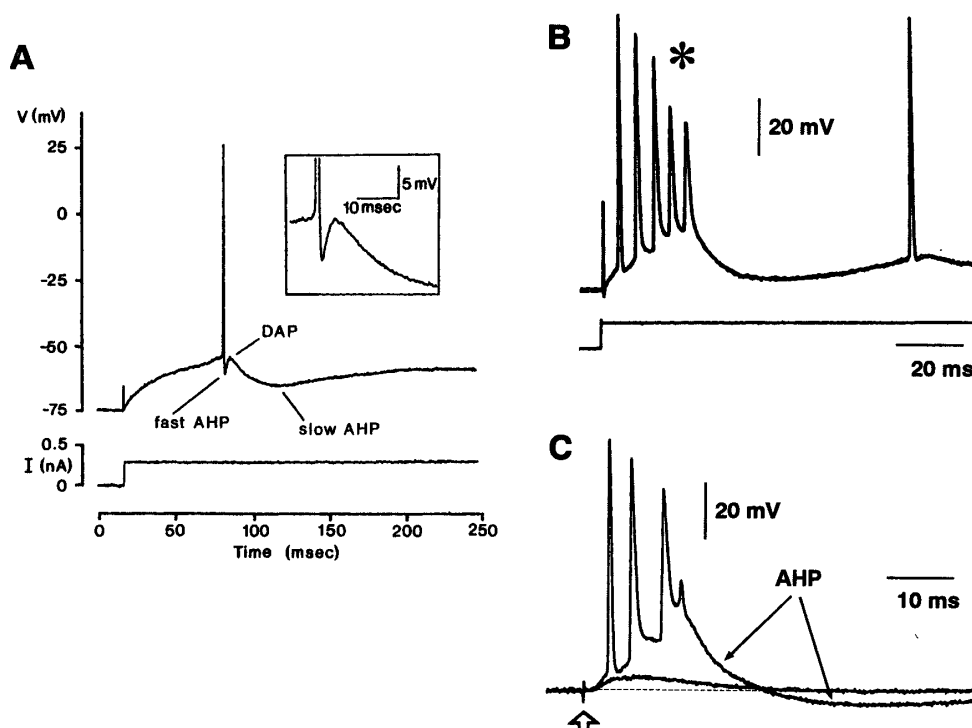
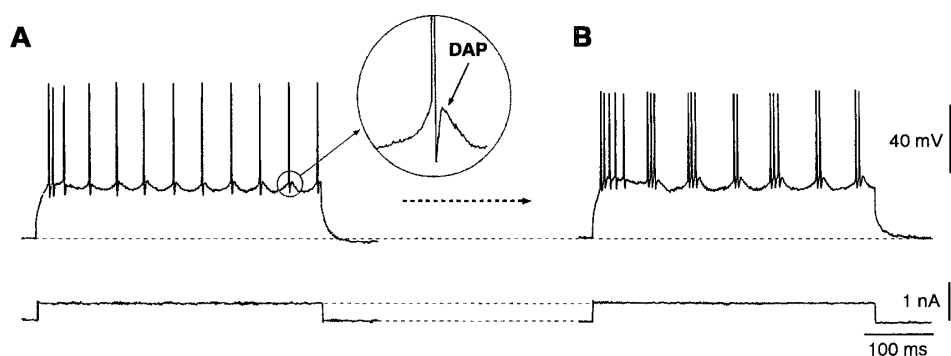


図3：脱分極性スパイク後電位（DAP）とIntrinsically-Bursting (IB)ニューロン

A, 脱分極性スパイク後電位は、スパイクの再分極過程の直後に生じ、その後にslow-AHPが続く。DAPを持たないニューロンの方が多い。

B and C, IBニューロンにおけるバースト発火パターン。脱分極パルス通電（B）或いはシナプス入力（C）によっても特徴的バースト発火を示す。バースト中のスパイク振幅は不活性化のため連続的に減衰し（*），また、バーストは、顕著なAHPにより終止される。



脱分極通電の反復刺激により、発火パターンが高頻度律動発火型に変化した

Kang & Kayano (1994, J. Neurophysiol.)

図4：Fast Rhythmic Burst (FRB) またはChatteringニューロン

脱分極通電の反復刺激によるSingle spikingパターンからFRBパターンへの変化。

DAPの増強が関与すると考えられる。ネコ大脳皮質運動野第VI層錐体細胞からの記録。

4. Wangのモデル

最近, Naチャネルの不活性化を阻害するイソギンチャク (シー・アネモネ) の毒素を投与すると, 錐体細胞はバースト発火やchattering様の発火パターンを示すようになることが報告された⁸⁾. こうしたことが及びIB細胞とのアナロジーから, chatteringの発火パターンにも持続性のNa電流が関与するのではないかという仮説が提唱され, そうした仮説の延長上にWangのシミュレーション論文⁹⁾も位置づけることが可能である. 持続性のNa電流自体は, 活性化も脱活性化も素速いことが知られており, その電流のみで脱分極性スパイク後電位を形成するには無理がある. つまり, 活動電位の再分極過程 (K電流系が積極的に働いている状況下) では, 持続性Na電流は速やかに脱活性化され, DAPのような電位変化を生じ難いと考えられる. もし関与するとすれば, 再分極過程で働くK電流系とは, 空間的或いは電気緊張的に隔てられた部位で持続性のNa電流が働き, その結果の脱分極電位が再分布することにより, 再分極過程で脱分極性スパイク後電位様のものが生じると考えられる. つまり, 再分極過程を含む活動電位を発生する部位 (通常細胞体) と電気緊張的に隔てられた部位 (通常樹状突起) に持続性のNa電流を設定することにより, 脱分極性スパイク後電位様のものを誘発或いはsimulationすることが可能となり, さらに, バースト或いはchatteringの発火パターンを誘発或いはsimulationすることが可能となったものと考えられる. 参考までに, WangのHodgkin-Huxleyモデルの式のエッセンスのみを上げておく.

$$\begin{aligned} C_s(dV_s/dt) = & \\ & -(I_{Na} + I_{Ks}) - (V_s - V_d)/R_c \\ C_d(dV_d/dt) = & \\ & -(I_{NaP} + I_{Ki}) - (V_d - V_s)/R_c \end{aligned}$$

C_s : 細胞体の膜容量,

C_d : 樹状突起部の膜容量,

V_s : 細胞体の膜電位,

V_d : 樹状突起部の膜電位

I_{Na} : Na電流, I_{NaP} : 持続性Na電流,

I_{Ks} : 非不活化K電流,

I_{Ki} : 不活化K電流, R_c : 結合抵抗

しかしながら, Wangのモデルでは, 活動電位を発生する細胞体コンパートメントと持続性のNa電流を発現する樹状突起コンパートメントとの間に設定された電気緊張的隔たりがlow-pass filterとして働き, 40Hz以上の高頻度バースト発火がシミュレーションできなかった. また, 持続性Na電流は電位依存性に活性化を受けるため, 通電電流量に比例してバースト内のスパイク数が増加する. そのため, 通電電流量を増加してもバースト間の時間間隔が短縮されず, 40Hz以上の高頻度バースト発火がシミュレーションできなかった. こうした異なる二つの要因が複合して, 高頻度バースト発火のシミュレーションが実現できなかったものと考えられる.

5. カルシウム依存性のカチオン電流

一方, 筆者は, 前述の所見を得た後, ラットの脳皮質切片標本を用いて, 錐体細胞の脱分極性スパイク後電位のイオン機構についての研究を行い, カルシウム依存性のカチオン電流がその本態であることを明らかにしてきた¹⁰⁾. この電流を発生するカチオン・チャネルは活動電位に伴って細胞内流入するカルシウムイオンによりゲートされる (図5). 細胞外のKイオン濃度 ($[K]_o$) を増加させたり, Naイオンを不透過のイオンに置換してNaイオン濃度 ($[Na]_o$) を減少させたりして, カチオン電流の反転電位の値を実験的にシフトさせることができる. シフトした値により, カチオン・チャネルにおけるK+イオン対するNa+イオンの透過比率 (P_{Na}/P_K) を約0.2と求めることができる. そうした実験の結果, このチャネルを通る電流は生理的条

件下では膜電位が -40mV (反転電位) より脱分極側にある時には外向きに流れ、過分極側にある時には内向きに流れ、カルシウム流入をもたらす活動電位の再分極過程 (-40mV より過分極側) で脱分極性スパイク後電位を引き起こすのに適した電流系であることが判明した。また、この反転電位は活動電位の閾値付近にあるため、活動電位の再分極過程で引き起こされたDAPから、さらに次の活動電位が誘発されることとなり、doublet/triplet発火等の少数のスパイクのバースト発火を考える上で重要な因子である。

カルシウム依存性のカチオン電流については、筆者の報告以前では、(1)反転電位は大差ないがムスカリンによりゲートされるチャンネル¹¹⁾と、(2)カルシウム単独でゲートされるが、反転電位が 0mV 付近つまり透過比率が1のもの¹²⁾の2種類が知られていた。(2)のチャンネルは、chatteringとは異なる持続の長いバースト

発火を誘発する際に働くものと考えられており、大脳皮質の錐体細胞には発現していないと考えられている。海馬CA3や大脳皮質前頭領野の錐体細胞は、ムスカリン受容体が活性化された状況では、パルス通電によりスパイクがトリガーされると、パルス通電のoffset後もスパイクがバースト状に持続することが見出された。こうした細胞では、K電流を遮断してカルシウム流入をいくら増大させても、ムスカリンが存在しないと、バーストが誘発されないとして、カルシウムのみでは不十分で、ムスカリンにより始めてゲートされる(1)のタイプと考えられてきた。

このように、カチオン電流は3種類存在するが、筆者が初めて記載したカチオン・チャンネルを用いて、chatteringの発火パターンのsimulation (共同研究；論文投稿中)を行った。その結果、Wangのモデルで認められた欠点を容易に克服することができ、筆者が見出したカルシ

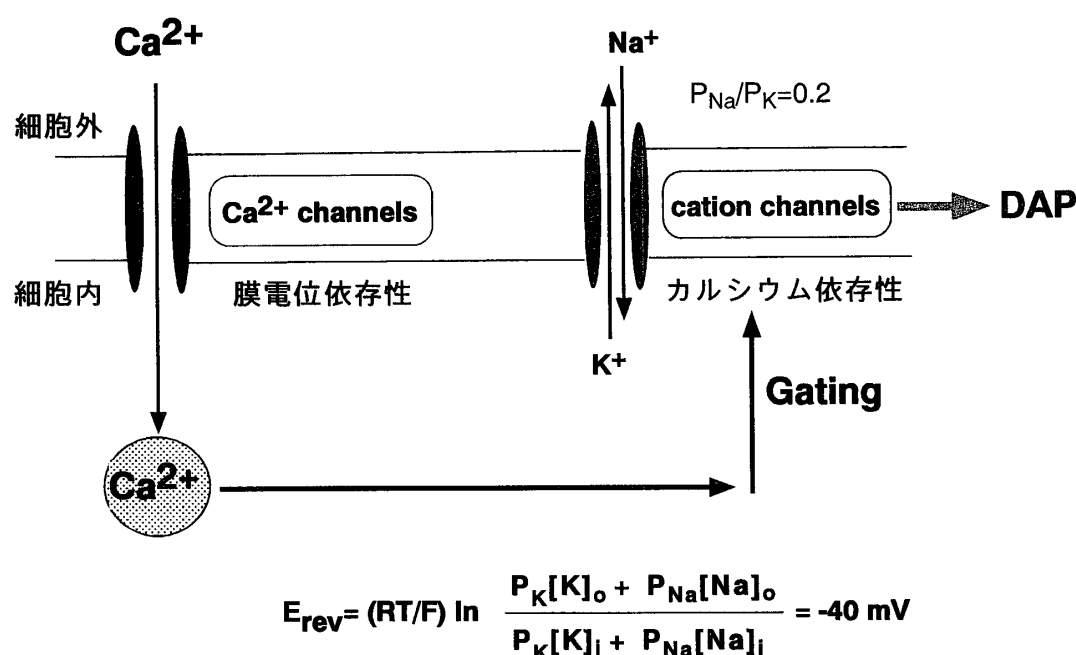


図5：カルシウム依存性カチオン・チャンネルの模式図

Goldman-Hodgkin-Katz式により、Kイオン及びNaイオンを透過させるカチオン・チャンネルの反転電位(E-reversal)が計算される。細胞内のKイオン及びNaイオン濃度は正確には知ることが出来ないが、細胞外のKイオン及びNaイオン濃度を実験的に変化させて様々な膜電位で電流を測定して反転電位を求める。得られた反転電位のシフトから、透過比率 (P_{Na}/P_K) を求めることが出来る。

ウム依存性カチオン電流がchatteringの発火パターンを担っている可能性が強く示唆された。そのsimulationの詳細については省略する。

6. まとめ

大脳新皮質構成細胞の70-80%を占める興奮性錐体細胞の大部分は、regular spikingパターン即ち、単一発火 (single spiking) パターンを示すニューロンとして分類されている。しかしながら、発火パターンは状況に応じて変わり得るものであることが次第に明らかになってきている。単一発火パターンしか示さない皮質錐体細胞に、強い脱分極通電の反復刺激を与えると、脱分極性スパイク後電位が増強され、その結果、周期的 (20-40Hz) に高頻度バースト発火を示すようになることが著者により初めて報告された (1994)。その後、この様な発火パターンは、認知や短期記憶の再現に際して発現するg-band (20-70Hz) 脳波の生成に深く関与するとして大きな注目を集めるようになった (Gray & McCormick, Science, 1996)。しかしながら、こうしたバースト発火発現の基盤と推定されている脱分極性スパイク後電位 (DAP) のイオン機序やその増強機構については不明であった。そこで、著者らはDAPのイオン機構及びその増強機構についての研究を行い、DAPが Ca^{2+} 依存性カチオン電流により担われ、さらに、 Ca^{2+} 依存性に増強されることを提唱した。

文 献

1. Agmon A. and Connors BW: Correlation between intrinsic firing patterns and thalamocortical synaptic responses of neurons in mouse barrel cortex. *J. Neurosci.* **12** : 319-329, 1992.
2. Gray CM and McCormick DA: Chattering cells: superficial pyramidal neurons contributing to the generation of synchronous oscillations in the visual cortex. *Science* **274** : 109-113, 1996.
3. Kang Y. and Kayano F.: Electrophysiological and morphological characteristics of layer VI pyramidal cells in the motor cortex. *J Neurophysiol* **72** : 578-591, 1994.
4. Kaneko T., Kang Y. and Mizuno N.: Glutaminase-positive and glutaminase-negative pyramidal cells in layer VI of the primary motor and somatosensory cortices: A combined analysis by intracellular staining and immunocytochemistry in the rat. *J. Neurosci.* **15** : 8362-8377, 1995.
5. Jensen MS, Azouz R and Yaari Y: Spike after-depolarization and burst generation in adult rat hippocampal CA1 pyramidal cells. *J Physiol.* **492** : 199-210, 1996.
6. Azouz R, Jensen MS and Yaari Y: Ionic basis of spike afterdepolarization and burst generation in adult rat hippocampal CA1 pyramidal cells. *J Physiol.* **492** : 211-223, 1996.
7. Helmchen H, Svoboda K, Denk W and Tank DW: In vivo dendritic calcium dynamics in deep-layer cortical pyramidal neurons. *Nature Neuroscience* **11** : 989-996, 1999.
8. Mantegazza M, Franceschetti S and Avanzini G: Anemone toxin (ATX II)-induced increase in persistent sodium current: effects on the firing properties of rat neocortical pyramidal neurons. *J Physiol.* **507** : 105-116, 1998.
9. Wang X-J: Fast burst firing and short-term synaptic plasticity: a model of neocortical chattering neurons. *Neuroscience* **89** : 347-362, 1999.
10. Kang Y, Okada T, and Ohmori H.: A phenytoin-sensitive cationic current participates in generating afterdepolarization and burst afterdischarge in rat neocortical pyramidal cells. *Eur J Neurosci* **10** : 1363-1375, 1998.
11. Fraser DD and MacVicar BA: Cholinergic-dependent plateau potentials in hippocampal CA1 pyramidal neurons. *J. Neurosci.* **16** : 4113-4128, 1996.
12. Wilson GF, Richardson FC, Fisher TE, Olivera BM, and Kaczmarek LK: Identification and characterization of a Ca^{2+} -sensitive nonspecific cation channel underlying prolonged repetitive firing in *Aplysia* neurons. *J Neurosci.* **16** : 3661-3671, 1996.