

目次

- 5-1) イントロ
- 5-2) Stimulation study
- 5-3) Dual recording study
- 5-4) Photostimulation 法による From-many-to-one の研究法
- 5-5) Autapse
- 5-6) 形態学的所見

5-1) イントロ

第2章で大脳皮質の構成要素と第3章で大脳皮質への入力について述べましたが、皮質への入力が皮質内でどのように処理されて出力されるのでしょうか。

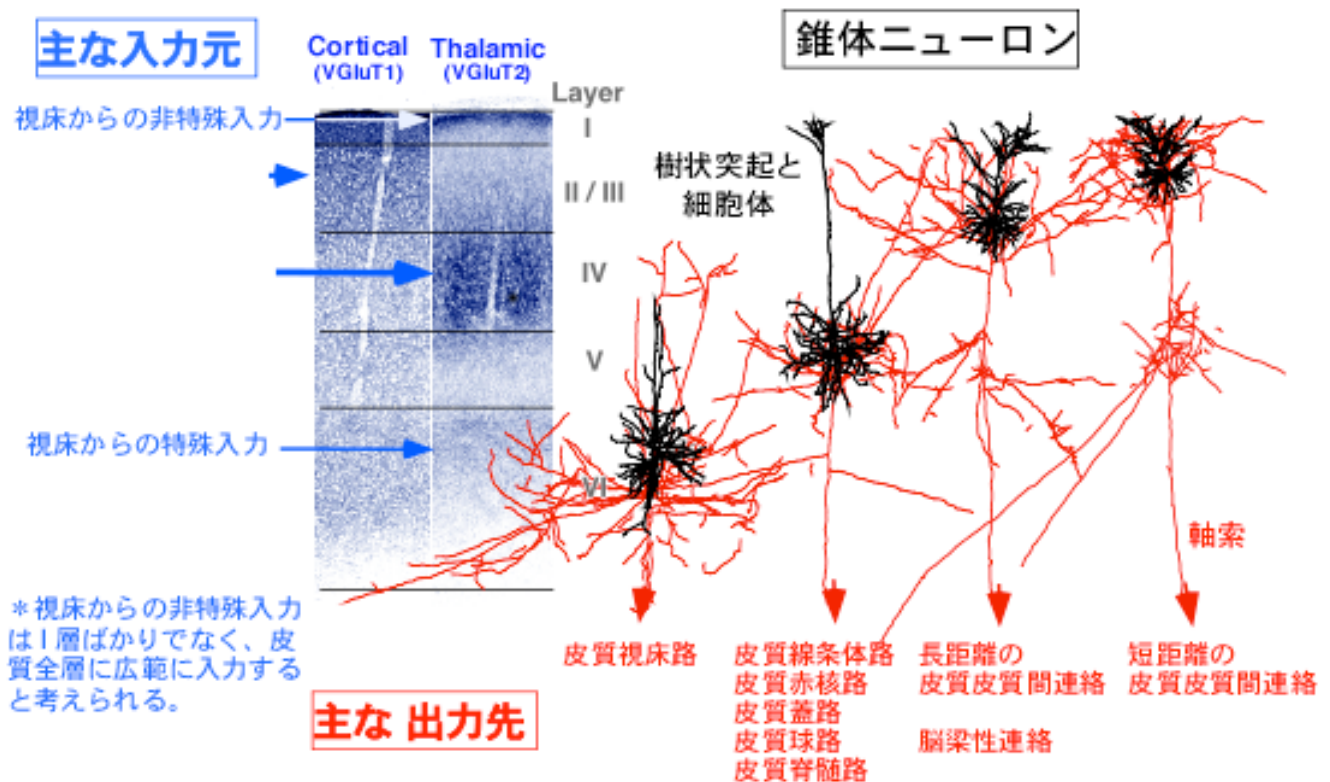


図5-1

上記の図5-1を見ますと、皮質各層に分布する錐体ニューロンは皮質外へ出力するばかりでなく、皮質局所に軸索側枝を多数出力しています。興奮性の皮質内局所神経回路を考えると、これら軸索側枝が主要な構成成分になります。図5-2に1949年にロレンテ・デ・ノ Lorente de Nó が、ゴルジ染色法による研究をまとめあげて描いた皮質内神経回路の模式図を掲げますが、現在の脳科学には未だにこの構図を超える大きな進歩はありません。

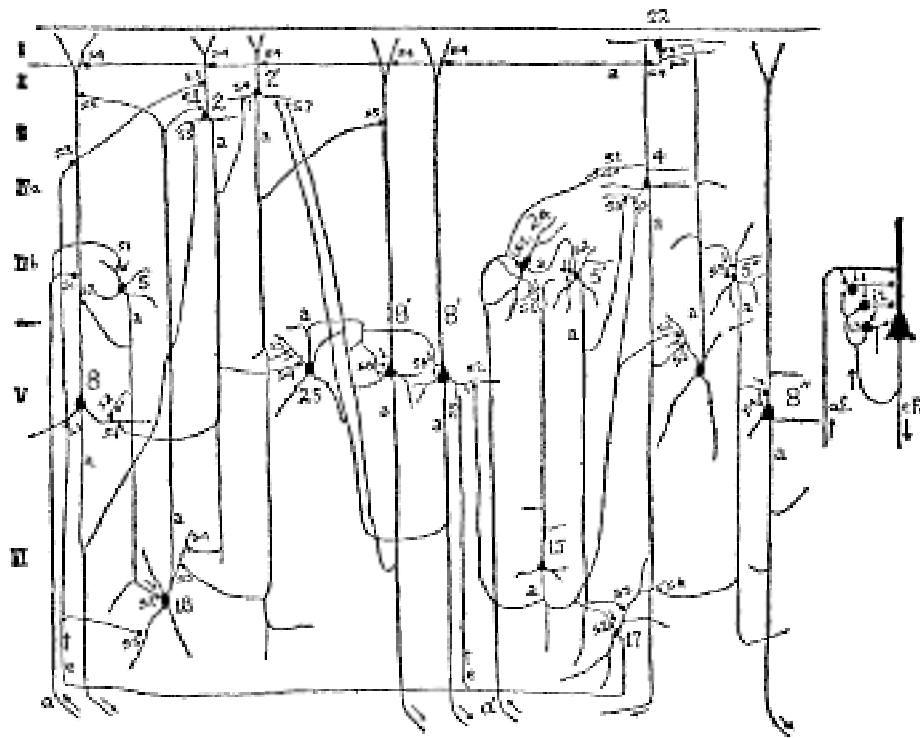


図 5-1

皮質内局所回路の一つの経路としては、例えば

- (1) 視床からの入力は主に皮質第 IV 層に入力し、
- (2) IV 層の有棘星状ニューロンあるいは錐体ニューロンは第 II/III 層に情報を送る。
- (3) 第 II/III 層の錐体ニューロンは情報の処理結果を一方で他の皮質領野に送り、他方で局所の第 V 層に送り、
- (4) 第 V 層の錐体ニューロンはこの皮質情報処理の結果を最終的に皮質下神経核に伝える。

といったものが考えられます。しかし実際には皮質内局所回路はこのような単純なものではないと考えられ、また抑制性の介在ニューロンによる修飾も重要であろう。例えば、Douglas と Martin によるマイクロカノニカルモデルなども提唱されています (図 5-2) が、多くの神経科学研究者の賛同を得ているとは言えません。皮質内局所回路の詳細は大脳皮質がどのような情報処理をするのか知るために必須の知識ですが、現在までの神経科学ではこの局所回路が明らかにされたとは言えません。

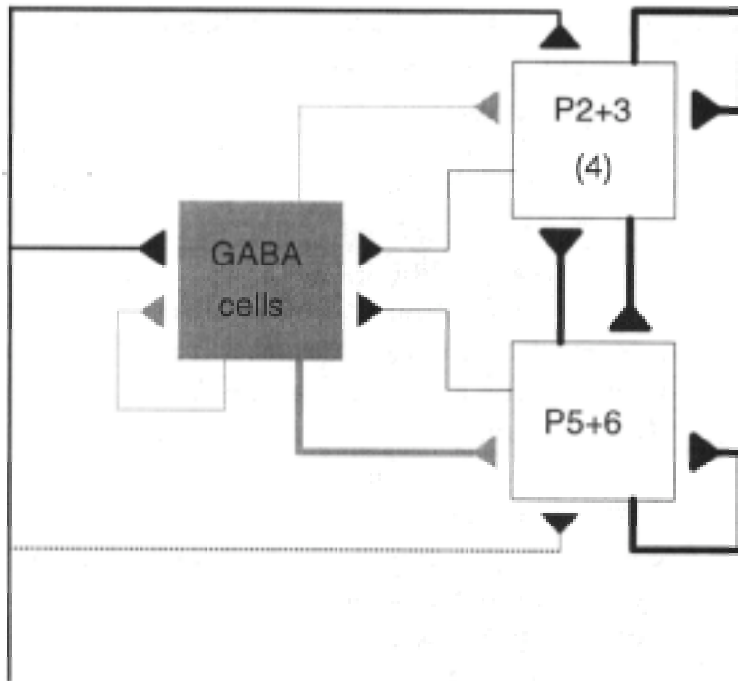


図 5-2 thalamus

5-2) Stimulation study

皮質局所を電氣的に刺激する最も primitive な方法として、刺激地点からの入力を見ることが出来ます。ただし、刺激地点の何を刺激しているのかいろいろ考慮する必要があります。

(1) 刺激している実体が細胞体なのか軸索なのか？

(2) 軸索だとすると、axon collateral を刺激して、antidromic -> orthodromic などの入力も考慮する必要があります。

type	onset latency ms	record rate	rise time 10-90% ms	failure rate	ampli mV(PSP) nS(PSC)	decay tau/tau1 ms	1/2 tau2 ms	width ms	SF/ SD	Cort Area	Animal	T °C	Ref
------	---------------------	-------------	---------------------------	--------------	-----------------------------	-------------------------	-------------------	-------------	-----------	--------------	--------	---------	-----

minimal stimulation

stimuli -> II/III fEPSP 1.6±.12 – 9.3±0.9 – – adult cat 32-5 (1)
fIPSP 3.3±.19 –

stimuli -> V fEPSP 1.7±.15 – 4.1±0.3 –
fIPSP 2.5±.19 –

(synaptic delay)

stimuli->L2/3PyrSH EPSC 2.29 4.89±1.97 17.7±7.7 ad monkey 20-24
(2)

stimuli->L2/3PyrLH EPSC 3.30±1.74 11.4±3.4
L2/3Pyr->L2/3Pyr EPSP 3.25 15.25

(1) Johannes et al 1995 JNp 74:1149-66

(2) Gonzalez-Burgos et al 2000 CC10:82-92

上記よりは sophisticated されたやり方として、細胞体あるいは軸索の firing で spiki-triggered averaging をして入力をみるやりかたもあります。

spike-triggered averaging (intra + extra-unit)

L3/4spike ->L3Pyr	EPSP	2.13±.59	29/699	1.2-2.6	.4±.5	8-18	-	adult rat	35	(1)
		0.9-3.6			.08-2.3					
L3/4spike ->L3Pyr	IPSP	4.8	1/699	2.4	.15	20	-			(1)

(1) Thomson 1988 JNp 60:1896-907

5-3) Dual and multiple recording study

局所回路を考える時に、近傍に存在する2ニューロン間のシナプス結合を調べるのが重要になります。これは、例えば皮質スライスの実験で2個のニューロンから同時に微小ガラス電極あるいはパッチ電極で細胞内記録をして、ニューロン間の連絡を調べることなどにより、実行可能な研究です。この種の研究では

- 1) 近傍で任意のニューロンを2個記録した時、シナプス結合が認められる確率
- 2) シナプス結合のある場合、一方のニューロンが発火した時に他方に生じるシナプス電位の平均の大きさと時間経過
- 3) シナプス結合のある場合、1発火当り何個の素量放出が起こるかの推定と failure rate
- 4) 細胞内染色をした場合、2ニューロン間に認められる apposition 数

等の情報が得られます。

5-3-1) 興奮性ニューロン間の連絡

同じ層内の結合は見つかり易い。

L3->L5 は多い。L5->L3 は少ない。

* Kawaguchi

L2/3s -> L5 FA (corticostriatal)

L2/3s -> L5 SA (corticopontine)

L2/3s -> L5 SA-d (corticostriatal)

layer Va pyramidal vs layer Va pyramidal [Frick et al (2007) Cereb Cortex 18: 297-406]

5-3-2) 興奮性ニューロンから抑制性ニューロンへの連絡

L1 (molecular layer) には inhibitory interneurons しか存在していません。Wozny & Williams [2011] によりますと、rat (P24-36) の S1 cortex に 1) neurogliaform cells (72/266 = 27%), 2) classical-accomodating neurons (137/266 = 52%), 3) FS neurons (23/266 = 8.6%), 4) burst-spiking (34/266 = 13%) が存在していましたが、このうち、neurogliaform cell (n=66 pairs) 以外のニューロン (n=33 pairs) は L2/3 pyramidal cell からの入力を受けていました。

Wozny C, Williams SR (2011) Specificity of Synaptic Connectivity between Layer 1 Inhibitory Interneurons and Layer 2/3 Pyramidal Neurons in the Rat Neocortex. Cereb Cortex. 2011 Jan 13. [Epub ahead of print]

5-3-3) 抑制性ニューロンから興奮性ニューロンへの連絡

L1 (molecular layer) には inhibitory interneurons しか存在しておりません。Wozny & Williams [2011] によりますと、rat (P24-36) の S1 cortex に 1) neurogliaform cells (72/266 = 27%), 2) classical-accomodating neurons (137/266 = 52%), 3) FS neurons (23/266 = 8.6%), 4) burst-spiking (34/266 = 13%) が存在していましたが、このうち、neurogliaform cell が L2/3 pyramidal cell を強く抑制していました(12/27 pairs)。

Wozny C, Williams SR (2011) Specificity of Synaptic Connectivity between Layer 1 Inhibitory Interneurons and Layer 2/3 Pyramidal Neurons in the Rat Neocortex. Cereb Cortex. 2011 Jan 13. [Epub ahead of print]

5-3-4) 抑制性ニューロン間のシナプス連絡

EN = excitatory neuron, Pyr = pyramidal cell, SS = spiny stellate,

LH = long-distance horizontal axon, SH = short-distance horizontal axon

RS = regular spiking

IN = interneuron, FS = fast-spiking neurons, LTS = low-threshold spiking, BIN = bursting interneuron

BC = basket cell, CDB = double bouquet cell, DT = dendrite-targeting cell,

VIP = VIP+ interneuron,

V, visual; S1, primary somatosensory; M, motor

w = week old, d = day old, n.w. = not written

EN->EN

type	onset latency	record rate	rise time 10-90%	failure rate %	ampli mV(PSP) nS(PSC)	decay tau/tau1 tau2	1/2 width	SF/SD	Cort Area	Animal	T °C	Ref
Pyr -> Pyr	EPSC	9/232	2.1±.6	12±.10	71±.45	7.6±4.3				27-32d cat	27±1	(2)
		8/197	1.8±.7	12±.10	36±.09	5.1±1.7				24-30d rat	27±1	(2)
Pyr->Pyr	EPSP	32/69						D>F	S,M,V	adult rat	34-6	(9)
L2/3PyrL->L2/3Pyr	EPSP	44/?	3.9±2.5		3.6±2.2		35±20		V	29-35d cat	25-7	(3)
L2/3PyrH->L2/3Pyr	EPSP	25/?	3.8±2.3		3.9±2.2		44±22		V	29-35d cat	25-7	(3)
L2/3Pyr->L2/3Pyr	EPSP	1.5±.3	65/247	1.86±.8	1.7±1.3		13.4±5.2		S,M,V	adult rat	35-6	(10)
L2/3Pyr->L2/3Pyr	EPSP	1.7±.79	8/81	2.5±1.3	1.4±8.2		20.6±15		V	adult cat	35-6	(10)
L3Pyr ->L3Pyr	EPSP	25/259	1.8±.9		.8±.7		12.9±5.5		V,S	adult rat	35-6	(7)
L2-4Pyr->L2-4Pyr	EPSP	24/1003	1.8±.4		1.0±.85		11.1±1.9	2F,5D	S1,M1	adult rat	34-5	(4)
L4EN->L4EN	EPSP	0.6	4/23	2	1.1		17.6		V	adult cat	35-6	(10)
L5Pyr->L5Pyr	EPSP	1.5±.15	15/163	1.8±1.4	1.7±1.46		16.2±11.7		S,M,V	adult rat	35-6	(10)
L5Pyr -> L5Pyr	EPSP							F	S1		30-2	(1)
L5Pyr -> L5Pyr	EPSP	1.7±.9	138/?	3.9±3.1	.14	1.3±1.1	2.9±2.3		S1	14-16d rat	32-4	(5)
L5Pyr ->L5Pyr	EPSP	29/259	2.3±1.1		1.3±1.2		16.1±7.5		V,S	adult rat	35-6	(7)
L5-6Pyr->L5-6Pyr	EPSP	34/1163	2.8		1.3±1.1		23		SM	adult rat	34-5	(8)
L6ctPyr->L6ctPyr	EPSP	2.6±.3	4/?	1.2±.1	34±9	.3±.1	7.1±3.3	F		adult rat/cat	35-6	(15)
L6ccPyr->L6ccPyr	EPSP	2.0±.4	4/?	1.7±1.0	2±2	1.7±.4	13±18	D		adult rat/cat	35-6	(15)
L6ctPyr->L6ccPyr	EPSP	2.0±.4	7/?	1.6±.7	20±20	.9±.7	12±3	F		adult rat/cat	35-6	(15)
L3Pyr ->L5Pyr	EPSP	25/259	2.8±1.2		.8±.6		18.2±7.2	D?	V,S	adult rat	35-6	(7)
L3Pyr->L5Pyr	EPSP	1.4±.3	16/29	2.0±0.9	1.4±0.6		30±4.1		S,M,V	adult rat	35-6	(10)
L3Pyr->L5Pyr	EPSP	2.8, 3	2/2	2.0, 2.6	3.2, 1.3		16, 9		V	adult cat	35-6	(10)

L4EN -> L2/3Pyr	EPSP	25/?	5.0±2.5	6.0±2.8	53±28	D?	V	29-35d cat	25-7 (3)
L4EN->L3Pyr	EPSP	1.4, 1.4	7/25	1.2, 2.6	3.3, 5.9	26, 14	S,M,V	adult rat	35-6 (10)
L4EN->L3Pyr	EPSP	1.4, 1.4	7/70	1.9±.4	1.1±.4	15±1.8	V	adult cat	35-6 (10)
L5Pyr ->L3Pyr	EPSP	3/259					V,S	adult rat	35-6 (7)
L5Pyr->L3Pyr	EPSP	1/29		0.3			S,M,V	adult rat	35-6 (10)
<i>morphology:</i>	<i># apposition</i>	<i>to basal</i>		<i>to apical</i>					
L5Pyr -> L5Pyr		5.5±1.1	63%		27%	(5)			
L3Pyr ->L5Pyr		1~4	5/16		9/16	(7)			
L5-6Pyr->L5-6Pyr		2,5,8				(8)			

(4) Thomson, West 1993 Nsci 54: 329-346

(8) Deuchars ... Thomson 1994 JP: 423-35

(1) Markram, Tsodyks 1996 Nature 382:807-10

(5) Markram et al 1997 JP 500:409-440

(9) Thomson 1997 JP 502:131-47

(7)Thomson, Bannister 1998 Nsci 84:669-83

(2) Yoshimura et al 1999 Nsci 88:347-52

*Reyes, Sakmann, 1999 JNs 19: 3827-35

(6) Tanczy-Hornoch et al 1999 CC 9:833-43

(3) Yoshimura et al 2000 JNsci 20:1931-40

(10) Thomson et al 2002 CC2:936-53

(15) West...Thomson 2006 CC16:200-11

IV spiny -> IV SS	EPSP	1.2±0.4			11.4±4.3			12-16w cat	34-6 (6)
IV spiny -> IV Pyr	EPSP	1.3±0.9			10.8±0.5				
IV spiny -> IV spiny	EPSP	1.0±0.4			10.3±1.7				
VI spiny -> IV spiny	EPSP	1.1±0.3			12.3±5.0				

EN->IN

type	onset latency	record rate	rise time 10-90%	failure rate	ampli mV(PSP)	decay tau/tau1	1/2 tau2	SF/SD	Cort Area	Animal	T °C	Ref
Pyr->FS	EPSP		.91±.5		.55±.46		5.1±1.9	F>D	S,M,V	adult rat	34-6	(9)
Pyr->LTS	EPSP		.68±.3		.45±.29		6.2±1.5	F	S,M,V	adult rat	34-6	(9)
EN->IN	EPSP							D		adult rat/cat	35-6	(14)
L6ctPyr->L6PV	EPSP	2.0±.4	7/?	.7±.1	23±9	.5±.3	9.5±2.6	F		adult rat/cat	35-6	(15)
L2/3Pyr ->IN(BC,CDB,DT)	EPSP		.67±.25		1.0±.5	7.8±4.3	4.7±1.0			adult cat	34-5	(1)
L2/3Pyr->L2/3IN	EPSP	1.3±.3	22/107	1.2±.9		1.9±1.6	8.1±5.2		S,M,V	adult rat	35-6	(10)
L2/3Pyr->L2/3IN	EPSP	.95±.2	6/25	2.2±1.4		3.1±1.4	8.2±2.9		v	adult cat	35-6	(10)
L2-4Pyr->L2-4IN	EPSP		32/1275	1.2±.47		.61±.31	4.8±1.6	F	SM	adult rat	34-5	(11)
L4EN->L4IN	EPSP	1.2	8/42	0.7		3.7	3.8		v	adult cat	35-6	(10)
L3-5EN->L3-5MpIN	EPSP		12/32	1.6±1.2	0/1	.94±.7	20±5.7	D		18-22d rat	20-4	(16)
L3-5EN->L3-5BtIN	EPSP		9/12	3.8±1.9	3/4	.21±.16	29.1±10.3	F		18-22d rat	20-4	(16)
L4EN->L4FS	EPSP		7/8	.52±.14	9/10	2.4±1.94	4.1±.82	D		adult rat	35-6	(16)
L4EN->L4FS	EPSP		11/17	.76±.27	13/14	2.7±1.6	5.0±1.8	D		adult cat	35-6	(16)
L4EN->L4nonFS	EPSP		7/9	1.26±.53	3/4	1.36±.87	9.5±3.9	F		adult rat	35-6	(16)
L4EN->L4nonFS	EPSP		3/9	1.2±.3	6/7	1.5±1.3	8.2±.72	F		adult cat	35-6	(16)
L5-6Pyr->L5-6BIN	EPSP		20/867	.97±.25		1.1±.89	6.8±2.2	F	SM	adult rat	33-5	(12)
L5Pyr -> L5FS	EPSC	.47±.28					1.3±.5	11±6	D	17±1d rat	30	(4)
L5Pyr -> L5FS	EPSC	.54±.26					1.3±.6	17±15	D/F	33±2d rat	30	(4)
L5Pyr->L5IN	EPSP	1.4	7/73	0.6		0.9	4		S,M,V	adult rat	35-6	(10)
L3Pyr->L4IN	EPSP	0.9	1/12	0.4		1.6	3.3		S,M,V	adult rat	35-6	(10)
L3Pyr->L4IN	EPSP	1.0±.2	7/37	0.85±.2		1.0±.4	8.3±5.64		v	adult cat	35-6	(10)
L4EN->L3IN	EPSP		1/10			<.2			S,M,V	adult rat	35-6	(10)
L4EN->L3IN	EPSP	0.6±.1	3/31	0.72±.04		1.2±.24	5.6±1.6		v	adult cat	35-6	(10)
<i>morphology:</i>	<i># apposition</i>											
L5-6Pyr->L5-6BIN		6,12	(3)									

- (11) Thomson et al 1993 Nsci 54:347-60
 (12) Thomson et al 1995 Nsci 69:727-38+739-55
 (9) Thomson 1997 JP 502:131-47
 (10) Thomson et al 2002 CC2:936-53
 (14) Thomson, West 2003 CC 13:136-43
 (15) West...Thomson 2006 CC16:200-11
 (16) Ali...Thomson 2007 JP 580: 149-69

(1) Buhl et al 1997 JP 500:689-713

(4) Angulo e tal 1999 JNsci 19:1566-76

Pyr -> VIP	EPSC	0.62±0.22		0.64±0.27		2.61±1.14	n.w.		15-21d rat	34	
Porer et al 1998 EJNsci 10:3617-28											
IV spiny -> basket	EPSP					3.0±1.1		12-16w cat	34-36		Tancy-
Hornoch et al 1998 JP 508:351-63											
Pyr -> FS (PPF)	EPSP	0.91±0.50				5.09±1.91		adult rat	34-36		
Thomson 1997 JP 502:131-47											
Pyr -> FS (PPD)	EPSP	1.32±1.11				7.22±4.64					
Pyr -> LTS IN	EPSP	0.68±0.30				6.18±1.49					
V/VI Pyr->burst spiny IN	EPSP	0.97±0.25						6.8±2.2	adult rat	33-35	
Thomson et al 1995 Nsci 69:727-38											

IN->EN

type	onset latency	record rate	rise time 10-90%	failure rate	ampli mV(PSP)	decay tau/tau1	1/2 tau2	SF/SD	Cort Area	Animal	T	Ref
	ms		ms		nS(PSC)	ms	ms				°C	
FS->Pyr	IPSP	10/595	2.7±0.6		1.2±.71		14.7±3.8					(13)
RSIN->Pyr	IPSP	3/595	3.8±.88		1.7±1.3		27.3±3.7					(13)
UIN->Pyr	IPSP	8/595	6.3±2.2		1.4±.74		56±23					(13)
L2/3IN->L2/3Pyr	IPSP	1.8±.8	17/107	3.9±1.5	.65±.44		21.5±1.9		S,M,V	adult rat	35-6	(10)
L2/3IN->L2/3Pyr	IPSP	1.6±.7	7/25	5.3	<.5~1		23.5		V	adult cat	35-6	(10)
L4IN->L4EN	IPSP	1.2±.3	4/42	3.5~3.9	0.6~1.1		20~24		V	adult cat	35-6	(10)
L5IN->L5Pyr	IPSP	1.1±.2	9/73	4.2±2.8	1.23±.4		23±11.8		S,M,V	adult rat	35-6	(10)
L4IN->L3Pyr	IPSP	1.1, 1.0	6/12	2.8, 3	1.6, 1.9		14, 34		S,M,V	adult rat	35-6	(10)
L4IN->L3Pyr	IPSP	0.8~1.9	10/12	3.5~4.4	0.43~1.0		13~31		V	adult cat	35-6	(10)

(13) Thomson et al 1996 JP 496:81-102

(10) Thomson et al 2002 CC2:936-53

IV basket -> IV spiny	IPSP						21.3±4.3					
			(interval?)									
V/VI Pyr->burst spiny IN	EPSP		0.8-1.5				4.4-10.4		adult rat	33-35		Deuchars
&T 1995 Nsci 69:739-55												
FS -> Pyr	IPSP		2.71±0.60				14.72±3.83			adult rat	34-36	
Thompson et al 1996 JP 496:81-102												
RS IN -> Pyr	IPSP		3.77±0.88				27.3±3.68					
unclassified IN -> Pyr	IPSP		6.3±2.22				56.29±23.44					

IN->IN

type	onset latency	record rate	rise time 10-90%	failure rate	ampli mV(PSP)	decay tau/tau1	1/2 tau2	SF/SD	Cort Area	Animal	T	Ref
	ms		ms		nS(PSC)	ms	ms				°C	
L3IN->L3IN	IPSP	.7, 1.5	2/8	2.0, 2.4	2.0, .7		8.0, 9.5		S,M,V	adult rat	35-6	(10)
L3IN->L3IN	IPSP	1.0, .8	2/1	2.3, 3.9	.8, 1.3		7, 10		V	adult cat	35-6	(10)
L4IN->L4IN	IPSP	.8~1.1	3/6	2.7~2.9	.4~2.7		11.0~11.7		V	adult cat	35-6	(10)
L4IN->L4IN	IPSP		3/5						S,M,V	adult rat	35-6	(10)
L4IN->L3IN	IPSP		1/1						V	adult cat	35-6	(10)

FS -> FS electric current	6.2±1.4	14-48d rat	32-33	Galarreta & Hestrin 1999 Nature 402:72-5
FS -> FS IPSC	10.4±2.0			(10) Thomson et al 2002 CC2:936-53

5-3-5) Electrical coupling (gap junction) I ↔ I

5-3-5-1) electrical synapse/coupling は錐体細胞間には認められず [Galarreta & Hestrin 1999]、同種の interneuron 間には頻繁に認められます。

FS vs FS	29 EC/44 pairs (66%)	[Galarreta & Hestrin 1999; P14-18 rat cortex]
FS vs Pyr	0/5	
FS vs nonFS	0/14	
Pyr vs Pyr	0/12	
PV-FS vs PV-FS	14/23 (61%)	[Galarreta & Hestrin 2002; adult mouse]
FS vs FS	24/39 (62%)	[Gibson et al 1999; P14-21 rat cortex]
LTS? vs LTS?	11/13 (85%)	
LTS vs FS	3/32 (9%)	
RS vs RS	0/80	
FS/LTS vs RS	0/71	
FS vs FS	4/7 (57%)	[Beierlein et al 2000; P15-20 rat cortex L4]
LTS? vs LTS?	9/16 (56%)	
LTS vs FS	2/15 (13%)	
RS vs RS	0	
FS vs FS	33/57 (58%)	[Gibson et al 2005; P14-21 rat cortex]
LTS? vs LTS?	16/24 (67%)	
LTS vs FS	4/55 (7%)	
FS vs FS	12/21 (67%)	[Deans et al 2001; P14-20 mouse S1L4]
LTS? vs LTS?	3/5 (60%)	
FS vs LTS?	0/10	
FS vs FS	9/10(90% P14), 8/8(P28),9/10(89% P42)	[Meyer et al 2002; mouse neocortex]
LS vs LS	83%	[Chu et al 2003; P14-24 rat cortex S1/V1 L1]
LS vs nonLS	2%	
LS-Ngf vs LS-Ngf	8/16 (50%)	[Simon et al 2005; P20-35 rat S1 L2/3]
LS-Ngf vs FS-basket	6/31 (19%)	
LS-Ngf vs RS-IN	6/30 (20%)	
LS-Ngf vs FS-AAC	1/1	
CB1-IS vs CB1-IS	19/21 (90%)	[Galarreta et al 2004; P14-20 mouse cortex]
MB vs MB	64/67 (96%)	[Blatow et al 2003; P14 mouse neocortex L2/3]
RSNP vs RSNP	12/28 (43%)	[Szabadics et al 2001; P18-25 rat S1 L2/3]
bCR vs bCR	9/15 (60%)	[Caputi et al 2009 mouse S1 L2/3]
mCR vs mCR	0/70	
mCR vs MB	12/19 (63%)	

* Connors のグループの L4 LTS には留意が必要でして、川口さんの定義した LTS は rebound burst が要件でしたが、それを満たさないもののようです。川口さんあるいは Goldberg JH が言うように LTS with rebound burst は L5 に限られるようで、川口さんは burst-spiking non-pyramidal あるいは non-FS と言ったりもしています。問題は SS を使っているとわかっているニューロンは L2/3, L5 の RSNP と L5 の BSNP (LTS) でして、その大半は Martinotti cell であろうと思われま

す。しかし、L4 LTS cells (Connors) については、SS を含有しているのかどうか、Martinotti なのかどうかも疑問です。

5-3-5-2) Connexins の皮質インターニューロンでの発現：

rat (adult)	Fr, Par & Cg cortex	Cx36mR \cap PV/ PV= 55%, NeuN \supset Cx36mR	Belluardo et al., 2000
	CA1/3 oriens	Cx36mR \cap PV/ PV= 30%	
	CA1 pyr	Cx36mR \cap PV/ PV= 50%	
	CA3 pyr	Cx36mR \cap PV/ PV= 62%	
	hilus	Cx36mR \cap PV/ PV= 45%	
	DG	Cx36mR \cap PV/ PV= 29%	
	Sub	Cx36mR \cap PV/ PV= 81%	
	CPu	Cx36mR \cap PV/ PV= 63%	
rat (adult)	S1 L1		Ma et al 2011
	S1 L2/3		
	S1 L4		
	S1 L5		
	S1 L6		
	S1 total		
mouse (P15)	S1 L4	Cx36lacZ \cap PV/PV=63%, -/ Cx36lacZ = 78%	Deans et al. 2001
		Cx36lacZ \cap SS/SS=27%, -/ Cx36lacZ = 28%	
mouse (adult)	S1	Cx36ir \cap PV/ PV= 50%	Priest et al 2001
		(Cx32 \cup Cx43) \cap PV/ PV= 40%	
mouse (adult)	cortex	NeuN \supset Cx36lacZ	Degen et al 2004
mouse (adult)	cortex	Cx36lacZ \cap PV/ PV= 99%	Helbig et al 2010

Belluardo N, Mudo G, Trovato-Salinaro A, Le Gurun S, Charollais A, Serre-Beinier V, Amato G, Haefliger JA, Meda P, Condorelli DF (2000) Expression of connexin36 in the adult and developing rat brain. *Brain Res.* 865:121-138.

Deans MR, Gibson JR, Sellitto C, Connors BW, Paul DL (2001) Synchronous activity of inhibitory networks in neocortex requires electrical synapses containing connexin36. *Neuron.* 31:477-485.

Degen J, Meier C, Van Der Giessen RS, Söhl G, Petrasch-Parwez E, Urschel S, Dermietzel R, Schilling K, De Zeeuw CI, Willecke K (2004) Expression pattern of lacZ reporter gene representing connexin36 in transgenic mice. *J Comp Neurol.* 473:511-525.

Helbig I, Sammler E, Eliava M, Bolshakov AP, Rozov A, Bruzzone R, Monyer H, Hormuzdi SG (2010) In vivo evidence for the involvement of the carboxy terminal domain in assembling connexin 36 at the electrical synapse. *Mol Cell Neurosci.* 45:47-58.

Priest CA, Thompson AJ, Keller A. 2001. Gap junction proteins in inhibitory neurons of the adult barrel neocortex. *Somatosens Mot Res.* 18:245-252.

5-3-5-3) Cx36 k/o のよって皮質・海馬では以下のようなことが認められます。

1) gamma frequency oscillation was reduced in the cortical and hippocampal slices [Hormuzdi et al. 2001; Maier et al. 2002]

2) gamma frequency oscillation was reduced in the hippocampus in vivo [Buhl et al. 2003]

3) P14-17 mouse neocortical slice で LTS cells (Connors) に認められる mGluR agonist (ACPD)-induced sharp fluctuation of membrane potential (14 Hz) が無くなる。 [Deans et al 2001]

4) Spontaneous sharp wave-burst discharges were produced in the hippocampal slices [Pais et al. 2002]

5) Very fast oscillations (> 200 Hz) evoked by microstimulation were strongly enhanced in the cerebral cortex in vivo [Butovas et al. 2006]

Amitai Y, Gibson JR, Beierlein M, Patrick SL, Ho AM, Connors BW, Golomb D (2002) The spatial dimensions of electrically coupled networks of interneurons in the neocortex. *J Neurosci.* 2002 May 15;22(10):4142-52.

Beierlein M, Gibson JR, Connors BW (2000) A network of electrically coupled interneurons drives synchronized inhibition in neocortex. *Nat Neurosci.* 2000 Sep;3(9):904-10.

- Blatow M, Rozov A, Katona I, Hormuzdi SG, Meyer AH, Whittington MA, Caputi A, Monyer H (2003) A novel network of multipolar bursting interneurons generates theta frequency oscillations in neocortex. *Neuron*. 2003 Jun 5;38(5):805-17.
- Caputi A, Rozov A, Blatow M, Monyer H (2009) Two calretinin-positive GABAergic cell types in layer 2/3 of the mouse neocortex provide different forms of inhibition. *Cereb Cortex*. 2009 Jun;19(6):1345-59.
- Chu Z, Galarreta M, Hestrin S. 2003. Synaptic interactions of late-spiking neocortical neurons in layer 1. *J Neurosci*. 23:96-102.
- Deans MR, Gibson JR, Sellitto C, Connors BW, Paul DL (2001) Synchronous activity of inhibitory networks in neocortex requires electrical synapses containing connexin36. *Neuron*. 2001 Aug 16;31(3):477-85.
- Galarreta M, Hestrin S. 1999. A network of fast-spiking cells in the neocortex connected by electrical synapses. *Nature*. 402:72-75.
- Galarreta M, Hestrin S (2002) Electrical and chemical synapses among parvalbumin fast-spiking GABAergic interneurons in adult mouse neocortex. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002 Sep 17;99(19):12438-43.
- Galarreta M, Erdélyi F, Szabó G, Hestrin S (2004) Electrical coupling among irregular-spiking GABAergic interneurons expressing cannabinoid receptors. *J Neurosci*. 2004 Nov 3;24(44):9770-8.
- Gibson JR, Beierlein M, Connors BW (1999) Two networks of electrically coupled inhibitory neurons in neocortex. *Nature*. 1999 Nov 4;402(6757):75-9.
- Gibson JR, Beierlein M, Connors BW (2005) Functional properties of electrical synapses between inhibitory interneurons of neocortical layer 4. *J Neurophysiol*. 2005 Jan;93(1):467-80.
- Mancilla JG, Lewis TJ, Pinto DJ, Rinzel J, Connors BW (2007) Synchronization of electrically coupled pairs of inhibitory interneurons in neocortex. *J Neurosci*. 2007 Feb 21;27(8):2058-73.
- Meyer AH, Katona I, Blatow M, Rozov A, Monyer H. (2002) In vivo labeling of parvalbumin-positive interneurons and analysis of electrical coupling in identified neurons. *J Neurosci*. 2002 Aug 15;22(16):7055-64.
- Szabadics J, Lorincz A, Tamás G (2001) Beta and gamma frequency synchronization by dendritic gabaergic synapses and gap junctions in a network of cortical interneurons. *J Neurosci*. 2001 Aug 1;21(15):5824-31.
- Simon A, Oláh S, Molnár G, Szabadics J, Tamás G (2005) Gap-junctional coupling between neurogliaform cells and various interneuron types in the neocortex. *J Neurosci*. 2005 Jul 6;25(27):6278-85.

5 - 3 - 5 - 4) Axoaxonal gap junction between pyramidal cells:

海馬 pyramidal cell あるいは歯状回の granule cell では axoaxonal gap junction というものが報告されています。もともと、fast prepotential (最近では spikelets と呼ばれます) として報告されていた [Spencer & Kandel 1961] ものでして、それは electrical coupling によって生じていると報告され [MacVicar & Dudek, 1981, 1982]、dye coupling でも証明されました [Perez-Velazquez et al 1994; Valiante et al 1995; Schmitz et al 2001]。最近では、これが high-frequency ripple oscillation (150~300 Hz; ~200 Hz) のメカニズムであると考えられています [Draguhn et al 1998; Traub et al 1999; Traub & Bibbig, 2000]。gap junction 部位は 1st Ranvier node ということになっています。

- *Draguhn A, Traub RD, Schmitz D, Jefferys JG (1998) Electrical coupling underlies high-frequency oscillations in the hippocampus in vitro. *Nature*. 1998 Jul 9;394(6689):189-92.
- *MacVicar BA, Dudek FE (1981) Electrotonic coupling between pyramidal cells: a direct demonstration in rat hippocampal slices. *Science*. 1981 Aug 14;213(4509):782-5.
- *MacVicar BA, Dudek FE (1982) Electrotonic coupling between granule cells of rat dentate gyrus: physiological and anatomical evidence. *J Neurophysiol*. 1982 Apr;47(4):579-92.
- *Perez-Velazquez JL, Valiante TA, Carlen PL (1994) Modulation of gap junctional mechanisms during calcium-free induced field burst activity: a possible role for electrotonic coupling in epileptogenesis. *J Neurosci*. 1994 Jul;14(7):4308-17.
- Schmitz D, Schuchmann S, Fisahn A, Draguhn A, Buhl EH, Petrasch-Parwez E, Dermietzel R, Heinemann U, Traub RD. (2001) Axo-axonal coupling, a novel mechanism for ultrafast neuronal communication. *Neuron*. 2001 Sep 13;31(5):831-40.
- *Spencer WA, Kandel ER (1961) Electrophysiology of hippocampal neurons. IV Fast prepotentials. *J Neurophysiol* 24:272-85.
- Traub RD, Bibbig A (2000) A model of high-frequency ripples in the hippocampus based on synaptic coupling plus axon-axon gap junctions between pyramidal neurons. *J Neurosci*. 2000 Mar 15;20(6):2086-93.
- Traub RD, Schmitz D, Jefferys JG, Draguhn A (1999) High-frequency population oscillations are predicted to occur in hippocampal pyramidal neuronal networks interconnected by axoaxonal gap junctions. *Neuroscience*. 1999;92(2):407-26.

Traub RD, Pais I, Bibbig A, LeBeau FE, Buhl EH, Hormuzdi SG, Monyer H, Whittington MA (2003) Contrasting roles of axonal (pyramidal cell) and dendritic (interneuron) electrical coupling in the generation of neuronal network oscillations. Proc Natl Acad Sci U S A. 2003 Feb 4;100(3):1370-4.

*Valiante TA, Perez-Velazquez JL, Jahromi SS, Carlen PL (1995) Coupling potentials in CA1 neurons during calcium-free-induced field burst activity. J Neurosci. 1995 Oct;15(10):6946-56.

5-4) Photostimulation 法による From-many-to-one の研究法

E. M. Callaway, L. Katz 等のグループにより開発された局所回路解析手法 [Callaway & Katz, 1993; Katz & Dalva, 1994] です。皮質スライスを **caged glutamate** の溶液に浸して、ある 1 個のニューロンから Voltage-clamp mode で whole cell 記録を取り、光ビームによる刺激により皮質スライスの各点で caged glutamate を分解して局所に glutamate の放出をします。細胞体・樹状突起のみに glutamate は作用するので、電気刺激と違って軸索刺激にならないことが大きな利点で、かつ刺激空間解像度も 50–75 μm と優れています。そうして、その各点各点の刺激で誘発される EPSC あるいは IPSC を記録して皮質スライスの各点からの入力として捉え、局所回路を解析する手法です。欠点として考えられることは：

- 1) 記録を取っているニューロンの樹状突起の存在している範囲内では、直接そのニューロンのグルタミン酸受容体を刺激していることになり、この成分の混入は記録中のニューロンのごく近傍のニューロンとの結合をみるのに邪魔になります。この混入を取り除くために、あとで low Ca 液に置き換えた反応を取り、その差分をシナプス結合とする手段もあります [Llano & Sherman, 2009] が、信頼できるものになるかどうかやや疑問です。
- 2) 細胞体近傍の樹状突起部分で uncage した時に action potential (AP) を発生させるほど強く刺激できると考えられますが、刺激されるニューロンの樹状突起の分布する範囲内であればそのニューロンに AP を原理的には発生可能であり、刺激点のニューロンをその常に光刺激の解像度で刺激できているかどうかには疑問が残ります。
- 3) したがって、同時にいくつのニューロンが発火しているのか？ 刺激強度によるのでしょうか、1 個とは限らない可能性が高いと思われます。
- 4) また、EPSC か IPSC であるか以外には入力元ニューロンの顔が見えないところも欠点です。

主に Callaway 等の仕事により、下記のような結果が得られています。

- ferret V1 L4B (magnocellular(mc) stream) spiny stellate (SS) or star pyramidal (SP) neuron に L4C α (mc) ばかりでなく、L4C β (parvocellular(pc)) からの入力もある。 [Dalva MB & Katz LC, 1994]
- primate V1 L3B tufted projecting pyramidal, non-tufted local pyramidal, \wedge は皮質各層から様々に入力する。 [Sawatari & Callaway 2000]
- primate V1 L6 pyramidal cell \wedge の input: class I with 4C α local axon arbor (mc) \leftarrow L4B (mc), 4C; class I with 4C β arbor (pc) \leftarrow L2/3 (pc), 4C; class II (without dense arbor in 4C) A with axons to deep Ls \leftarrow deep Ls; class IIB with axon to deepest & superficial Ls \leftarrow deepest & superficial Ls; class IIC with axons to all Ls \leftarrow all Ls [Briggs F, Callaway EM 2001]
- primate V1 L5 pyramidal \wedge all Ls から input する; L5 cluster 1 (8/40) \leftarrow strong L5/6; cluster 2 (7/40) \leftarrow L4C α , 5/6; cluster 2 (11/40) \leftarrow 2-4B, 4C β ; cluster 4 (14/40) \leftarrow strong L2-4B.

- rat V1 L2/3 FS basket, pyramidal とともに、L4/5 から強い入力を受ける。RS interneuron には不階層から EPSC を受けるものと、L2/3 の横方向から広い入力を受けるものがある。[Dantzker JL, Callaway EM 2000]
- rat V1 L2/3 pyr dual recording <- L2-4, L5: 相互に結合している L2/3 pyr は L2-4 から common excitatory (+) input を受けていることが多い。任意の 2 L2/3 pyrs は L5 から common (+) input を L2-4 から common inh (-) input を受けている。[Yoshimura Y, Dantzker JL, Callaway EM 2005]
- rat V1 L2/3 IN dual recording <- L2-4, L5: FS IN は近くの pyr と reciprocal connection を形成することが多く、この場合にのみ両者は common (+) input を受けている; RS IN は近くの pyr と reciprocal connection を作ることは少ない。[Yoshimura Y, Callaway EM 2005]
- rat V1 L6 neurons: L2/3 からの入力は少ない; type I tufted pyr (L5B dendrite 少; 6/60) <- L6 > L5B; type II tufted pyr (L5B dendrite 多; 38/60) <- L6 > L5B > L4; IN (7/60) <- L6, L5B; non-tufted pyr (2/60); bipolar excitatory (3/60); inv pyr (3/60) <- L6 [Zarrinpar A, Callaway EM 2006]
- rat A1; L2/3 pyr <-(ex) L2-4; L4 projecting excitatory <- L2/3 pyr; cf. V1, S1 では projecting L4 neuron は少ない [Barbour DL, Callaway EM 2008]
- mouse S1 L2/3 INs: CR+ Martinotti <-(ex) L2/3; Burst-spiking IN <-(ex) L2/3; FS basket <-(ex) L4, L2/3; CR- Martinotti <-(ex) L4, L2/3; bipolar IN <-(+) L4, L2/3; chandelier <- L2/3, L5A; Ngf <- L2/3, L5A; irregular spiking basket <- L2/3, L5A; RS presumptive basket <- L2/3, L5A [Xu X, Callaway EM(2009)]

Barbour DL, Callaway EM (2008) Excitatory local connections of superficial neurons in rat auditory cortex. *J Neurosci.* 2008 Oct 29;28(44):11174-85.

Briggs F, Callaway EM (2001) Layer-specific input to distinct cell types in **layer 6** of monkey primary visual cortex. *J Neurosci.* 2001 May 15;21(10):3600-8.

Briggs F, Callaway EM (2005) Laminar patterns of local excitatory input to **layer 5** neurons in macaque primary visual cortex. *Cereb Cortex.* 2005 May;15(5):479-88.

Callaway EM, Katz LC (1993) Photostimulation using caged glutamate reveals functional circuitry in living brain slices. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993 Aug 15;90(16):7661-5.

Dalva MB, Katz LC (1994) Rearrangements of synaptic connections in visual cortex revealed by laser photostimulation. *Science.* 1994 Jul 8;265(5169):255-8. Erratum in: *Science* 1994 Sep 16;265(5179):1644.

Dantzker JL, Callaway EM (2000) Laminar sources of synaptic input to cortical inhibitory interneurons and pyramidal neurons. *Nat Neurosci.* 2000 Jul;3(7):701-7.

Katz LC, Dalva MB (1994) Scanning laser photostimulation: a new approach for analyzing brain circuits. *J Neurosci Methods.* 1994 Oct;54(2):205-18.

Sawatari A, Callaway EM (1996) Convergence of magno- and parvocellular pathways in layer 4B of macaque primary visual cortex. *Nature.* 1996 Apr 4;380(6573):442-6.

Sawatari A, Callaway EM (2000) Diversity and cell type specificity of local excitatory connections to neurons in layer 3B of monkey primary visual cortex. *Neuron.* 2000 Feb;25(2):459-71.

Yoshimura Y, Callaway EM (2005) Fine-scale specificity of cortical networks depends on inhibitory cell type and connectivity. *Nat Neurosci.* 2005 Nov;8(11):1552-9.

Yoshimura Y, Dantzker JL, Callaway EM (2005) Excitatory cortical neurons form fine-scale functional networks. *Nature.* 2005 Feb 24;433(7028):868-73.

Xu X, Callaway EM (2009) Laminar specificity of functional input to distinct types of inhibitory cortical neurons. *J Neurosci.* 2009 Jan 7;29(1):70-85.

Zarrinpar A, Callaway EM (2006) Local connections to specific types of layer 6 neurons in the rat visual cortex. *J Neurophysiol.* 2006 Mar;95(3):1751-61.

他のグループとして Svoboda/Shepherd、Staiger、Sherman 等のグループの仕事も散見します。

- rat S1 L5: IB pyr <-(intracolumnar ex) L4, L6 > L2/3, L5; IB pyr <-(transcolumnar ex) L4, 5, 6; IB pyr <-(inh) rare; RS pyr <-(intracolumnar ex) L2-5 >> L6; RS pyr <-(transcolumnar ex) L4, 5; RS pyr <-(intracolumnar inh) L2/3, L5 [Schubert, Staiger et al 2001]
- rat S1 barrel: L4 SS <-(intracolumnar ex) L4 ; L4 star-pyr <-(intra- and extracolumnar ex) L4 >L5; L4 SS <-(intracolumnar inh) L4; L4 star-pyr <-(intracolumnar inh) L4 >L5a [Schubert... Staiger 2003]
- rat S1: L5a RS/IB pyr <-(intracolumnar ex, inh; extracolumnar ex) L5, L4 [Schubert ... Staiger 2006]

Schubert D, Staiger JF, Cho N, Kötter R, Zilles K, Luhmann HJ (2001) Layer-specific intracolumnar and transcolumnar functional connectivity of layer V pyramidal cells in rat barrel cortex. *J Neurosci*. 2001 May 15;21(10):3580-92.

Schubert D, Kötter R, Zilles K, Luhmann HJ, Staiger JF (2003) Cell type-specific circuits of cortical layer IV spiny neurons. *J Neurosci*. 2003 Apr 1;23(7):2961-70.

Schubert D, Kötter R, Luhmann HJ, Staiger JF (2006) Morphology, electrophysiology and functional input connectivity of pyramidal neurons characterizes a genuine layer Va in the primary somatosensory cortex. *Cereb Cortex*. 2006 Feb;16(2):223-36.

- rat S1: L2/3 barrel pyr <-(+) L4; L2 septum pyr <-(+) L5A; L3 septum pyr <-? [Shepherd GM, Svoboda K 2005; Shepherd et al 2005]
- mouse (YFP-H) motor-frontal L5B: 5B upper blade pyr YFP+ <- L3; 5B upper blade pyr YFP- <- L2 [Yu ... Shepherd 2008]
- mouse motor; L2 <-(descending exc)-> L5,6 [Weiler ... Shepherd 2008]
- mouse motor (fluorosphere into cervical cord or CPU): upper L5B corticospinal <-(ex) L2/3 > L5B; lower L5B corticospinal <-(ex) L5B; lower L5A crossed corticostriatal <-(ex) L2/3; upper L5A crossed corticostriatal <-(ex) 少; L5B crossed corticostriatal <-(ex) 少 [Anderson ... Shepherd 2010]
- mouse (P20-25) M1 vibrissa, L2/3 -> L5, L6 <-weak-> other Ls; S1 vibrissa, L2/3 -> L5, L4 -> L3, , L6 <-weak-> other Ls; S2, L2/3->L5 > L4->L3; L6 は他の L から比較的独立している [Hooks ... Shepherd 2011]

Anderson CT, Sheets PL, Kiritani T, Shepherd GM (2010) Sublayer-specific microcircuits of corticospinal and corticostriatal neurons in motor cortex. *Nat Neurosci*. 2010 Jun;13(6):739-44.

Hooks BM, Hires SA, Zhang YX, Huber D, Petreanu L, Svoboda K, Shepherd GM (2011) Laminar analysis of **excitatory** local circuits in **vibrissal motor** and **sensory** cortical areas. *PLoS Biol*. 2011 Jan 4;9(1):e1000572.

Shepherd GM, Svoboda K (2005) Laminar and columnar organization of ascending excitatory projections to layer 2/3 pyramidal neurons in rat barrel cortex. *J Neurosci*. 2005 Jun 15;25(24):5670-9.

Shepherd GM, Pologruto TA, Svoboda K (2003) Circuit analysis of experience-dependent plasticity in the developing rat barrel cortex. *Neuron*. 2003 Apr 24;38(2):277-89.

Shepherd GM, Stepanyants A, Bureau I, Chklovskii D, Svoboda K (2005) Geometric and functional organization of cortical circuits. *Nat Neurosci*. 2005 Jun;8(6):782-90.

Weiler N, Wood L, Yu J, Solla SA, Shepherd GM (2008) Top-down laminar organization of the excitatory network in motor cortex. *Nat Neurosci*. 2008 Mar;11(3):360-6.

Yu J, Anderson CT, Kiritani T, Sheets PL, Wokosin DL, Wood L, Shepherd GM (2008) Local-Circuit Phenotypes of Layer 5 Neurons in Motor-Frontal Cortex of YFP-H Mice. *Front Neural Circuits*. 2008;2:6.

- mouse A1 (fluorosphere into MG): L5 co-th, low threshold bursting <-(ex) L2/3, 4, 5, <-(inh) L2/3, lower L5; L6 co-th, RS <-(intracolumnar ex) L6 > L5, <-(adjacent columnar inh) L6 [Llano & Sherman 2009]

Lam YW, Sherman SM (2010) Functional organization of the somatosensory cortical layer 6 feedback to the thalamus. *Cereb Cortex*. 2010 Jan;20(1):13-24.

Llano DA, Sherman SM (2009) Differences in intrinsic properties and local network connectivity of identified layer 5 and layer 6 adult mouse auditory corticothalamic neurons support a dual corticothalamic projection hypothesis. *Cereb Cortex*. 2009 Dec;19(12):2810-26. Epub 2009 Apr 7. Erratum in: *Cereb Cortex*. 2010 Sep;20(9):2259.

5-4-1) optogenetics を利用した方法

最近登場した方法で、channel rhodopsin (ChR) を使用した photostimulation 法です。遺伝子特異的に興奮させたり、抑制させたりできる仕組みとしてこれから局所回路の解析に期待される手法です。

・ **subcellular ChR2-assisted circuit mapping (sCRACM)**: ChR2 を、in utero electroporesis で L2/3 pyramidal cell に発現させ、ChR2 AAV 感染で VPM, Pom, M1 neuron に発現させ、1-stop-1-ChR2 AAV を L4 neuron/Cre Tg mice に感染させて L4 neuron に発現させた。TTX 存在下で axon terminal の光刺激による EPSP を L2/3, L5 pyramidal cell からパッチして記録を取りました。ChR2 が軸索に分布することを利用した技術です。

VPM, Pom, L4, L2/3 -> L2/3 pyr basal dendrites

M1 -> L2/3 pyr apical dendrites

VPM, L4, L2/3 -> L5 pyr basal dendrites & apical shaft

M1 -> L5 pyr apical tufts & basal dendrites

という入力のパターンが認められたという報告です。L2/3, L5 pyramidal cell の apical tufts は M1 からの入力部位であるというところがミソです。 [Petreanu ... Svoboda 2009 mouse P26-34, S1 barrel slice]

・ VB thalamocortical projection neuron の軸索に ChR2/synapsin lentivirus を発現させて、皮質を光刺激して錐体細胞 FS 細胞で大きな EPSP を認め、SS-containig neuron にはごく弱い EPSP のみを認めています。**FS neuron の興奮は disynaptic feedforward inhibition を、FS そのものを含めた全ての種類の皮質ニューロンに生じさせます。**逆に corticothalamic projection neuron に発現させた場合、relay neuron と ThReN neuron とともに興奮させることが出来ています。この場合、relay neuron に feed forward inhibition が認められますが、ThReN neuron そのものには認められません。 [Cruikshank...Connors 2010; mouse P8-15 slice, VB, S1 barrel]

・ Gad2-gene-specific expression/ChR2-EGFP mouse [Kätzel et al 2011; mouse P8-15 slice, VB, S1 barrel];

M1, L5B-|L5A;

S1, L5B-|L5A

L5A-|L4

L4-|L2/3

V1, L6-|L5B

L5B-|L5A

L5A-|L4

L4-|L2/3,

手法上の問題点は以下の通りです：1) 細胞体を刺激できているのだろうか？-> SFig3 で大丈夫としている。2) GABAergic neurons 以上に分類できていないので、(polysynaptic inhibition の可能性は排除できるものの) caged glutamate/photostimulation で IPSP を見た仕事と同等の見しか得られていない可能性がある。

Cruikshank SJ, Urabe H, Nurmikko AV, Connors BW (2010) Pathway-specific feedforward circuits between thalamus and neocortex revealed by selective optical stimulation of axons. Neuron. 2010 Jan 28;65(2):230-45.

Kätzel D, Zemelman BV, Buetfering C, Wölfel M, Miesenböck G (2011) The columnar and laminar organization of inhibitory connections to neocortical excitatory cells. Nat Neurosci. 2011 Jan;14(1):100-7. Epub 2010 Nov 14.

Petreanu L, Mao T, Sternson SM, Svoboda K (2009) The subcellular organization of neocortical excitatory connections. Nature. 2009 Feb 26;457(7233):1142-5.

5-5) Autapse

最近、局所で自分自身に Input する錐体細胞の存在が報告されました。whole cell clamp の難しさからか、データは13から15日齢のラットに限られていますが、Golgi 染色法で成ウサギの錐体細胞でも昔報告されています。しかし、コンタクトの数は少なく、このマスターバージョンの回路が意味を為すのかどうか疑問です。

Lubke, J et al. (1996) Frequency and dendritic distribution of autapses established by layer 5 pyramidal neurons in the developing rat neocortex: comparison with synaptic innervation of adjacent neurons of the same class. *J. Neurosci.* 16: 3209-3218, 1996.

Vander Loos, H & Glaser, EM (1972) Autapses in neocortical cerebri: synapses between a pyramidal cell's axon and its own dendrites., *Brain Res.* 48: 355-360, 1972.

5-6) 形態学的所見

5-6-1)

PV-producing neuron への入力

Kisvárdy ZF, Beaulieu C, Eysel UT (1993) Network of GABAergic large basket cells in cat visual cortex (area 18): implication for lateral disinhibition. *J Comp Neurol* 327: 398-415. [biocytin-labeled large basket cell -> PV+ somata]

5-6-2) from-one-to-group study [Kaneko et al (2000); Cho et al (2004)]

5-6-3) from-many-to-one study

・ mouse V1 L5 pyramidal から in vivo で whole cell 記録をとる。そのとき電極から TVA (receptor for EnvA), RV-G, GFP を発現させる DNA を注入。2 日後に SADΔG-mCherry(EnvA) rabies virus を感染させ、1 neuron に入力するニューロンのすべてを可視化。3 例で局所に 152, 221, 666 個のニューロンが monoretrograde labeling。LGd にも monoretrograde labeling 有り。

この手法の問題点は：1) ウィルスのサイズと synaptic cleft のサイズから考えても、本当の transsynaptic になっているかどうか疑問であること、2) L4 ニューロンには感染しにくい傾向がありそうだという水面下の噂があり、rabies virus には何らかの感染特異性があること、monosynaptic input neuron をすべて検出できる訳ではない可能性が高いこと、などが挙げられます。感染特異性については pseudorabies virus についても同様の経験があります [自験例]。

Rancz EA, Franks KM, Schwarz MK, Pichler B, Schaefer AT, Margrie TW (2011) Transfection via whole-cell recording in vivo: bridging single-cell physiology, genetics and connectomics. *Nat Neurosci.* 2011 Feb 20. [Epub ahead of print]

*) connectome; automated reconstruction with EM

5-7) Chemically specific local connections

現時点で、一般的に神経結合が形成されるときのイメージは

(1) 胎児期に軸索が進展してどの方面の神経核あるいは皮質に向かうか決めるときには、誘因因子・反発因子などを利用した molecular basis の過程が主として働く。これは主に遺伝子発現により、実行される。

(2) 出生後の臨界期あるいは個体の成熟後には、どのニューロンが実際の神経結合を作り、局所のネットワークを決めるかということについては、ランダムファクターが重きをなし、経験依存的・活動依存的になされる。

というように考えられています。

しかし、一部の神経結合においては、経験依存的・活動依存的ではなく、化学的に、すなわち遺伝子発現により決まっているように見受けられるものが散見されます。ここでは大脳皮質におけるそういった Chemically specific connection を紹介しましょう。

5-7-1) Local inhibitory connection to interneurons

5-7-1-1) Local connection to **fast-spiking (FS)/parvalbumin (PV)**-producing interneurons (group I)

Rat S1 cortex 各層の PV-immunopositive (+) neuron の約1/4 は強い **VIP+** 入力を受けていて、3/4 は少量の入力しか受けていませんでした。前者は後者より細胞体が小さく樹状突起の張りも小さかったですが、3倍（密度では5倍）の **VIP+** axodendritic synapse を受けていました。しかし、この解析では細胞体と first order dendrites までしか、分析できていません。PV immunoreactivity の限界です。

Rat S1 cortex で一部の PV+ dendritesが mGluR7a++ terminal (したがって、glutamatergic かあるいは **VIP+** interneuron 由来) を受けていることが報告されています [Dalezios et al 2002]。

サル(V1/V2/TE)の2重免疫染色で **CR+** terminal -> 31% (V1), 22% (V2), 32% (TE) of PV+ cells の multiterminal 入力を受けます [Defelipe et al 1999]。

Defelipe J, González-Albo MC, Del Río MR, Elston GN (1999) Distribution and patterns of connectivity of interneurons containing calbindin, calretinin, and parvalbumin in visual areas of the occipital and temporal lobes of the macaque monkey. *J Comp Neurol.* 1999 Sep 27;412(3):515-26.

Dalezios Y, Luján R, Shigemoto R, Roberts JDB, Somogyi P (2002) Enrichment of mGluR7a in the presynaptic active zones of GABAergic and non-GABAergic terminals on interneurons in the rat somatosensory cortex. *Cerebral Cortex* 12: 961-974.

Dávid C, Schleicher A, Zuschratter W, Staiger JF (2007) The innervation of parvalbumin-containing interneurons by **VIP-immunopositive interneurons** in the primary somatosensory cortex of the adult rat. *Eur J Neurosci.* 2007 Apr;25(8): 2329-40.

5-7-1-2) Local connection to **calbindin (CB)**-producing interneurons (group II)

サル(V1/V2/TE)の2重免疫染色で **PV+** terminal -> 43% (V1), 37% (V2), 29% (TE) of CB+ cells の multiterminal 入力を受けます [Defelipe et al 1999]。

Rat S1 cortex 各層の CB+ interneurons は proximal & distal dendrites, soma に大量の **VIP+** terminal を受けていました。樹状突起はかなり CB immunoreactivity で良く染色されているものもありますが、遠位部については underestimate されている可能性があります。

サル V1/V2/TE の 2 重免疫染色で **CR+** terminal → 76% (V1), 80% (V2), 85% (TE) of CB+ cells の multiterminal 入力を受けます [Defelipe et al 1999]。

Defelipe J, González-Albo MC, Del Río MR, Elston GN (1999) Distribution and patterns of connectivity of interneurons containing calbindin, calretinin, and parvalbumin in visual areas of the occipital and temporal lobes of the macaque monkey. *J Comp Neurol.* 1999 Sep 27;412(3):515-26.

Staiger JF...et al (2004) Calbindin-containing interneurons are a target for **VIP**-immunoreactive synapses in rat primary somatosensory cortex. *J. Comp. Neurol.* 468:179-189.

5-7-1-3) Local connection to **somatostatin (SS)**-producing interneurons (group II)

ラット S1 で、SS/mGluR1alpha+ neurons の soma/dendrites は非常に強い mGluR7a+ inputs を受けていました [Dalezios et al 2002]。これには mGluR7+ glutamatergic terminal もありましたが、GABAergic terminal の 80% も mGluR7a+ であり、**VIP+** terminal のほとんどが mGluR7+ でした。反対に mGluR7+/VIP+ terminal の 88% が mGluR1alpha+ interneuron に入力しました。(ちなみに PV+ terminal は mGluR7a-)

Dalezios Y, Luján R, Shigemoto R, Roberts JDB, Somogyi P (2002) Enrichment of mGluR7a in the presynaptic active zones of GABAergic and non-GABAergic terminals on interneurons in the rat somatosensory cortex. *Cerebral Cortex* 12: 961-974.

5-7-1-4) Local connection to **VIP**-producing neurons (group III)

Rat S1 cortex 各層のすべての **VIP+** interneurons は **PV+** terminals を受けています [Staiger et al 1997]。

Staiger JF, Freund TF, Zilles K (1997) Interneurons immunoreactive for vasoactive intestinal polypeptide (VIP) are extensively innervated by **parvalbumin-containing boutons** in rat primary somatosensory cortex. *Eur J Neurosci* 9: 2259-68.

Staiger JF...et al (2002) Innervation of interneurons immunoreactive for VIP by intrinsically bursting pyramidal cells and **fast-spiking interneurons** in infragranular layers of juvenile rat neocortex. *Eur. J. Neurosci.* 16:11-20.

5-7-1-4-1) Local connection to **CR**-producing neurons (group III)

サル V1/V2/TE の 2 重免疫染色で **PV+** terminal → 44% (V1), 48% (V2), 22% (TE) of CB+ cells の multiterminal 入力を受けます [Defelipe et al 1999]。

サル V1/V2/TE の 2 重免疫染色で **CB+** terminal → 35% (V1), 38% (V2), 27% (TE) of CB+ cells の multiterminal 入力を受けます [Defelipe et al 1999]。

Defelipe J, González-Albo MC, Del Río MR, Elston GN (1999) Distribution and patterns of connectivity of interneurons containing calbindin, calretinin, and parvalbumin in visual areas of the occipital and temporal lobes of the macaque monkey. *J Comp Neurol.* 1999 Sep 27;412(3):515-26.

5-7-1-4-2) Local connection to **PPTB/CCK**-producing neurons (group III)

奇妙なことだけれども、ラットの新皮質に Vesicular glutamate transporter 3 (VGluT3) を発現する GABA neuron が存在します [Hioki et al 2004]。これらは、PPTB/CCK-producing neurons の subpopulation ですが、これらのニューロンの VGluT3+ terminal は自分の subpopulation を

含む PPTB+ あるいは CCK+ の interneuron の細胞体を囲んで axosomatic array を形成していません。

Hioki H, Fujiyama F, Nakamura K, Wu S-X, Matsuda W, Kaneko T (2004) Chemically specific circuit composed of vesicular glutamate transporter 3- and preprotachykinin B-producing interneurons in the rat neocortex. *Cerebral Cortex* 14: 1266-75.

5-7-1-5) Local connection to **late-spiking (LS)** neurons (group IV)

研究がなされておられません。

5-7-1-6) その他の Local GABAergic inputs to GABAergic neurons

ヒト側頭葉新皮質の PV-/CB- GABAergic neurons の一部の細胞体が CR+ multiterminal に囲まれていることが報告されています [del Rio & DeFelipe 1997]。

del Rio MR, DeFelipe J (1997) Synaptic connections of calretinin-immunoreactive neurons in the human neocortex. *J. Neurosci.* 17:5143-5154, reprint(+), ID = 4126

*) Others

Kubota Y, Kawaguchi Y (2000) Dependence of GABAergic synaptic areas on the interneuron type and target size. *J Neurosci* 20: 375-86.

Porter JT...et al (1999) Selective excitation of subtypes of neocortical interneurons by nicotinic receptors. *J. Neurosci.* 19:5228-5235, ID = 5048

5-7-2) Local excitatory connection to interneurons

mGluR7a+ glutamatergic inputs to mGluR1alpha+/SS+ interneurons の存在。

Dalezios Y, Luján R, Shigemoto R, Roberts JDB, Somogyi P (2002) Enrichment of mGluR7a in the presynaptic active zones of GABAergic and non-GABAergic terminals on interneurons in the rat somatosensory cortex. *Cerebral Cortex* 12: 961-974.

5-7-3) local inhibitory connection to pyramidal neurons

マウスの V1 と S1 で、callosal projecting pyramidal cells の細胞体に PV+ axosomatic synapse と PV- axosomatic synapse を調べたしごとがあります [Czeiger & 1997 White]。S1 callosal projecting cell と V1 small callosal projecting cell の axosomatic synapses の 1/3 が PV+ であったが、V1 large callosal projecting cell の axosomatic synapses ではもっと少なく、3-9%だけが PV+ でありました。S1 と V1 で差があったところが注目点です。

ヒトの新皮質で CR+ multiterminal endings が npNFP+ or CB+ pyramidal dendrites/cell body に頻繁に入力していることが報告されています [del Rio & DeFelipe 1997]。

ラットの側頭葉皮質では以外に symmetric axospinous junction が多く見つかります (1/3)。そこには VGluT2+ thalamocortical asymmetric synapses が形成されている確率が高いという報告があります [Kubota et al 2007]。

Czeiger D, White EL (1997) Comparison of the distribution of parvalbumin-immunoreactive and other synapses onto the somata of callosal projection neurons in mouse visual and somatosensory cortex. *J Comp Neurol* 379: 198-210.

del Rio MR, DeFelipe J (1997) Synaptic connections of calretinin-immunoreactive neurons in the human neocortex. *J. Neurosci.* 17:5143-5154.

Kubota Y, Hatada S, Kondo S, Karube F, Kawaguchi Y (2007) Neocortical inhibitory terminals innervate dendritic spines targeted by thalamocortical afferents. *J Neurosci.* 2007 Jan 31;27(5):1139-50.