

平成 30 年 6 月 21 日現在

機関番号：34310

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K12770

研究課題名(和文)パーキンソン病の病態を説明する大脳基底核スキームの提案

研究課題名(英文)New scheme of the basal ganglia in Parkinson's disease

研究代表者

藤山 文乃(Fujiyama, Fumino)

同志社大学・脳科学研究科・教授

研究者番号：20244022

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：大脳皮質 - 大脳基底核 - 視床ループは行為選択や随意運動実行に関与している。げっ歯類の線条体背外側部はこのうち運動機能と関わりが深い部位とされ、大脳皮質の一次運動野・二次運動野や、運動視床であるVA/VL核、および、視床髄板内核群・正中線核群から興奮性シナプス入力を受ける。今回我々は、線条体の少なくとも背外側部においてはPVニューロンは入力元の領域に拘らず視床からは樹状突起の近位に、大脳皮質からは樹状突起の全体に投射を受けるという傾向をもつことを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：In rodents, the dorsolateral striatum regulates voluntary movement by integrating excitatory inputs from the motor-related cerebral cortex and thalamus to produce contingent inhibitory output to other basal ganglia nuclei. Striatal parvalbumin (PV)-producing interneurons receiving this excitatory input then inhibit medium spiny neurons (MSNs) and modify their outputs. Our observations of thalamostriatal and corticostriatal appositions by immunohistochemistry for pathway-specific vesicular glutamate transporters confirmed that thalamic inputs preferentially, and cortical ones less preferentially, made apposition on proximal dendrites of PV neurons. This axodendritic organization suggests that PV neurons produce fast and reliable inhibition of MSNs in response to thalamic inputs and process excitatory inputs from motor cortices locally and plastically, possibly together with other GABAergic and dopaminergic dendritic inputs, to modulate MSN inhibition.

研究分野：神経解剖学

キーワード：大脳基底核

1. 研究開始当初の背景

大脳皮質 - 大脳基底核 - 視床ループは行為選択や随意運動実行に関与している。げっ歯類の線条体背外側部はこのうち運動機能と関わりが深い部位とされ、大脳皮質の一次運動野・二次運動野や、運動視床である VA/VL 核、および、視床髄板内核群・正中線核群から興奮性シナプス入力を受ける。VA/VL 核は大脳基底核の出力核である黒質網様部から抑制性投射を受け、線条体に投射する。線条体は GABA 作動性の投射ニューロン (medium spiny neuron; MSN) が 77 - 95%を占め、それ以外を GABA 作動性のインターニューロン・アセチルコリン作動性のインターニューロンが占める。このうち GABA 作動性のインターニューロンは、パルプアルブミン発現ニューロン (PV ニューロン)・nitric oxide synthase/ソマトスタチン/neuropeptide Y (NPY) 発現ニューロン・カルレチニン発現ニューロンなどに分類される。インターニューロンのうち、PV ニューロンは最も数が多く、MSN を主な標的として抑制し線条体の出力を制御している。このような PV ニューロンによる線条体出力の調整を理解するためには、PV ニューロンに対する視床や大脳皮質からの入力がどのように行われるかを知ることが必要である。

2. 研究の目的

これまでの研究から、これら線条体 PV ニューロンも MSN と同様に大脳皮質・視床から興奮性の入力を受けることが知られている。本研究では大脳皮質二次運動野からの興奮性入力と、VA/VL 核からの興奮性入力とが PV ニューロンの樹状突起のどの位置に入力されるか、また、より広範な大脳皮質・視床入力をどのように受けるかを形態学的に明らかにし、それにより、PV ニューロンが視床・皮質興奮性入力をどのように処理し MSN の抑制

を行っているかを解明することを目的としている。

3. 研究の方法

本研究ではこの目的のためにパルプアルブミンのプロモーター配下に myrGFP-LDLRct 遺伝子を導入したトランスジェニックマウス (PV-FGL マウス) を用いた。myrGFP-LDLRct は膜移行性シグナルを有する緑色蛍光タンパク質 (GFP) であり、GFP を細胞体及び樹状突起の細胞膜に局在させることができるため、シナプスと推定される軸索 - 樹状突起近接構造の観察において有用である。PV-FGL マウスの線条体を免疫組織化学により観察した結果、PV 陽性ニューロンのうち 95.5%が GFP を発現し、且つ GFP 発現ニューロンの 93.3%が PV を発現していた。この結果は、PV-FGL マウスの GFP は PV ニューロンに特異的に発現することを示している。

運動皮質及び運動視床核から投射する軸索は順行性ウィルストレースーの AAVdj-CAG-hChR2-H134R-tdTomato を用いて標識した。運動視床 (VA/VL 核) へ注入した順行性ウィルストレースーは注入部位に存在する細胞体を標識し、一次/二次運動野の I・III・V 層および線条体背外側部に分布する軸索を標識した。一方、二次運動野へ注入した順行性ウィルストレースーは線条体背外側部・中央部および運動視床を含む視床の広範囲に投射する軸索を標識した。線条体背外側領域では、この視床・皮質から投射される軸索分布が重なっていた。この領域で、運動皮質・運動視床からの PV ニューロンへの軸索投射を調べた。共焦点顕微鏡を使用し PV ニューロンの細胞体から樹状突起の終端までを辿りながら、PV ニューロンと標識軸索、シナプスマーカーを多重蛍光撮影し、3 次的に樹状突起と軸索終末ブトンの接触を確認した。

4 . 研究成果

線条体 PV ニューロンに近接する求心性軸索投射について、

運動視床は線条体 PV ニューロンの近位樹状突起に対し好んで投射し、運動皮質は樹状突起の全体に投射すること、VGlut2 陽性の軸索終末は線条体 PV ニューロンの近位樹状突起に対し好んで投射し、VGlut1 陽性の軸索は樹状突起の全体に均一な投射すること、VGlut2 と VGlut1 はいずれも PV ニューロンの細胞体に投射し、VGlut2 の VGlut1 に対する密度比は樹状突起の 60 μm 以降の密度比と比べ、細胞体で有意に高いことが明らかとなった。

順行性トレーサーの実験は二次運動皮質および視床 VA/VL 核という限局された小領域からの軸索投射を見ており、投射元の領域の違いによる差異を排除できるのに対し、免疫染色の結果はより広範な領域からの投射を可視化している。これらの結果が類似の傾向を示したことは、線条体の少なくとも背外側部においては PV ニューロンは入力元の領域に拘らず視床からは樹状突起の近位に、大脳皮質からは樹状突起の全体に投射を受けるという傾向をもつことを示唆する。

PV ニューロンの樹状突起における膜電位伝導が少なくとも閾値下では受動的であると仮定すれば、視床の近位樹状突起への投射は、後シナプス電位が細胞体に到達するまでの減衰を起し難くし、結果としてより大きな駆動力に寄与することが推察される。したがって、視床入力 PV ニューロンに対して driver としての働きを持つ可能性が考えられる。これと対照的に、大脳皮質が線条体 PV ニューロンに影響を与えるためには多数のニューロンの同期的・連続的な活動が必要であることと、本研究で明らかにされた、樹状突起上の均一な投射分布から考えると、大脳皮質は PV ニューロン樹状突起の局所的な興奮/抑制のバランスを調整する modulator の

役割を有する可能性がある。

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 8 件)

- Matsuda W, Sonomura T, Honma S, Ohno S, Goto T, Hirai S, Itoh M, Honda Y, Fujiyama F, Ueda S. Anatomical variations of the torcular Herophili: macroscopic study and clinical aspects. *Anatomical Science International*, 12: 1-5, 2018. (査読あり) doi: 10.1007/s12565-018-0436-z, Nakano Y, Karube F, Hirai Y, Kobayashi K, Hioki H, Okamoto K, Kameda H, Fujiyama F* Parvalbumin-producing striatal interneurons receive excitatory inputs onto proximal dendrites from the motor thalamus in male mice. *J Neurosci Res*, *in press*. (査読あり) doi: 10.1002/jnr.24214
- Mizutani K, Takahashi S, Okamoto S, Karube F*, Fujiyama F*. Substance P effects exclusively on prototypic neurons in mouse globus pallidus. *Brain Structure and Function*, *in press*. doi: 10.1007/s00429-017-1453-8. (査読あり) DOI: 10.1007/s00429-017-1453-8
- Oh Y-M, Karube F, Takahashi S, Kobayashi K, Takada M, Uchigashima M, Watanabe M, Nishizawa K, Kobayashi K, Fujiyama F*. Using a novel PV-Cre rat model to characterize pallidonigral cells and their terminations. *Brain Struct Funct*, 222(5): 2359-2378, (査読あり) doi: 10.1007/s00429-016-1346-2, 2017
- Unzai T, Kuramoto E, Kaneko T, Fujiyama F*. Quantitative Analyses of the

Projection of individual Neurons from the Midline Thalamic Nuclei to the Striosome and Matrix Compartments of the Rat Striatum. *Cerebral Cortex*, 27(2): 1164-1181, (査読あり) doi: 10.1093/cercor/bhv295, 2017

Fujiyama F*, Nakano T, Matsuda W, Furuta T, Udagawa J, Kaneko T. A Single-Neuron Tracing Study of Arkypallidal and Prototypic Neurons in Healthy Rats. *Brain Struct Funct*, 221(9):4733-4740, (査読あり) doi: 10.1007/s00429-015-1152-2, 2016

Fujiyama F*, Karube F, Takahashi S. Morphological elucidation of basal ganglia circuits contributing reward prediction. *Frontiers in Neuroscience*, 5:1-8, (査読あり) doi: 10.3389/fnins.2015.00006, PubMed:25698913, 2015

Yamada K, Takahashi S, Karube F, Fujiyama F, Kobayashi K, Nishi A, Momiyama T Neuronal circuits and physiological roles of the basal ganglia in terms of transmitters, receptors and related disorders. *Journal of Physiological Sciences*66(6):435-446. (査読あり) DOI 10.1007/s12576-016-0445-4, 2016

[学会発表](計 20 件)

中野泰岳、苅部冬紀、藤山文乃. The projections onto striatal parvalbumin expressing interneurons from motor related areas of cerebral cortex and thalamus 第 40 回日本神経科学学会, 2017 年 7 月 20 日～23 日, 千葉

Oh Y-M, Karube F, Takahashi S, Kobayashi K, Takada M, Uchigashima M, Watanabe M, Nishizawa K, Kobayashi K, Fujiyama F*. Using a novel PV-Cre rat

model to characterize pallidonigral cells and their terminations 第 40 回日本神経科学学会, 2017 年 7 月 20 日～23 日, 千葉

Mizutani K, Takahashi S, Okamoto S, Karube F*, Fujiyama F*. Substance P effects exclusively on prototypic neurons in mouse globus pallidus 第 40 回日本神経科学学会, 2017 年 7 月 20 日～23 日, 千葉

Karube F, Fujiyama F. Morphological and electrophysiological evaluation of cortico-pallidal pathway in rodent" World Congress of Neurology 2017, 2017 年9月16日～21日, 京都(国際学会)

Fujiyama F. Basal Ganglia Circuits for Motor and Behavioral, Emotional Performances" 21st International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders in Vancouver (BC, Canada) 2017 年, バンクーバー(カナダ) 招待講演(国際学会)

Fujiyama F. Using a novel PV-Cre rat model to characterize pallidonigral cells and their terminations "12th International Basal Ganglia Society Meeting (Mérida, Yucatán. México) 2017 年, メリダ(メキシコ) 招待講演(国際学会)

Oh Y-M, Karube F, Takahashi S, Kobayashi K, Takada M, Uchigashima M, Watanabe M, Nishizawa K, Kobayashi K, Fujiyama F*. Using a novel PV-Cre rat model to characterize pallidonigral cells and their terminations" 第 92 回日本解剖学会近畿支部学術集会 2016 年 11 月 27 日(大阪)

Fujiyama F. 大脳基底核回路の形態学的解析, 第 59 回日本脳循環代謝学会学術集会 招待講演(基調講演), 2016 年, 徳島

Unzai T, Fujiyama F. Quantitative analyses of the projection of individual neurons from the Midline thalamic nuclei to the striosome and matrix compartments of the rat striatum, 第 39 回日本神経科学大会 2016 年 7 月 20 日～22 日, 横浜

Takahashi S, Kobayashi K, Karube F, Fujiyama F. Optogenetic manipulation of neuronal firings in the primary motor cortex of a mouse model of Parkinson's disease, 第 39 回日本神経科学大会 2016 年 7 月 20 日～22 日, 横浜

Mizutani K, Takahashi S, Okamoto S, Karube F*, Fujiyama F*. Morphological and electrophysiological properties of neurokinin-1 receptor positive pallidal neurons in mice. 第 39 回日本神経科学大会 2016 年 7 月 20 日～22 日, 横浜

Oh Y-M, Karube F, Takahashi S, Kobayashi K, Takada M, Uchigashima M, Watanabe M, Nishizawa K, Kobayashi K, Fujiyama F*. Dopaminergic Neurons Are Innervated by Pallidal Neurons in Rat. 第 39 回日本神経科学大会 2016 年 7 月 20 日～22 日, 横浜

藤山文乃「パーキンソン病と機能神経外科学生理学的知見再考」第 55 回日本定位・機能神経外科学会(仙台), 2016 年, 仙台, 招待講演(基調講演)

藤山文乃 Quantitative Analyses of the Thalamic Projections to the Striosome and Matrix Compartments of the Rat Striatum "121 回日本解剖学会 総会・全国学術集会 2016 年, 福島, 招待講演(シンポジウム)

藤山文乃「視床線条体投射とストリオーム・マトリックス構造」第 91 回日本解剖学会近畿支部学術集会(京都) 2015

藤山文乃「行動システム脳科学の新展開」

平成 27 年度生理研研究会(愛知) 2015 年 12 月 4-5 日, 招待講演(シンポジウム)
藤山文乃「大脳基底核を形態学的に再検証する 第 38 回日本神経科学大会(神戸) 招待講演(ランチョンセミナー) 2015 年 7 月 28 日～31 日, 神戸

藤山文乃 "Single neuron analysis of the Basal Ganglia" 第 38 回日本神経科学大会, 招待講演(シンポジウム) 2015 年 7 月 28 日～31 日, 神戸

藤山文乃「大脳基底核ネットワークの解析」第 45 回日本臨床神経生理学会学術大会(大阪) 招待講演(教育講演)

藤山文乃 大脳基底核ネットワーク解析」第 4 回東北パーキンソン病研究会招待講演 2015 年 9 月 5 日, 仙台

〔図書〕(計 1 件)

藤山文乃、他『脳神経外科医が知っておくべきニューロサイエンスの知識』神経伝達物質/文光堂、総ページ 226、pp. 32-33, 2015

〔その他〕

ホームページ等

同志社大学脳科学研究科神経回路形態部門藤山文乃研究室

<http://ncircuit.doshisha.ac.jp/>

同志社大学脳科学研究科神経回路形態部門

<http://brainscience.doshisha.ac.jp/introduction/sys/nc.html>

researchmap 藤山文乃

<http://researchmap.jp/fuminofujiyama/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

藤山 文乃 (FUJIYAMA, Fumino)

同志社大学・大学院脳科学研究科・教授

研究者番号: 20244022

(2)研究分担者

苅部 冬紀 (KARUBE, Fuyuki)

同志社大学・研究開発推進機構・准教授

研究者番号：60312279