

令和元年6月14日現在

機関番号：82674

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K01957

研究課題名(和文) 尾側線条体の新規機能領域と扁桃体入力の生理的意義 - 安全信号学習と恐怖条件付け

研究課題名(英文) Compartment specific modulation with intrinsic acetylcholine in the dorsal and caudal striatum of mice

研究代表者

三浦 正巳 (Miura, Masami)

地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター(東京都健康長寿医療センター研究所)・東京都健康長寿医療センター研究所・研究副部長

研究者番号：40291091

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：線条体は大きな神経核であり、運動制御に加え、行動決定や強化学習に関わる。また線条体は機能領域に分かれ、アセチルコリンは機能領域を特徴づける主要な因子である。背側線条体では、ニコチン受容体依存性にGABA性抑制性入力を誘発した。このニコチン受容体の作用はストリオソームで弱く、ニコチン受容体関連薬により領域特異的に調節できることを示した。また情動に関わる神経核と連絡の多い尾側線条体では、アセチルコリンとオピオイドが協調して、興奮性入力の長期抑圧現象を誘導することを見出した。これらの結果は、運動異常、あるいは行動異常だけを緩和する方法を開発するうえで役立つ情報である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

線条体は、運動から行動、情動といった多くの機能を担っている。そのため多くの疾患にも関わる。ドーパミンやアセチルコリンは線条体の強力な調節因子であるが、線条体全てに強く作用してしまうため、運動だけ、あるいは行動異常だけを治療することは困難である。機能領域に特異的な生理的、薬理的作用が分かれば、特定の機能だけを調節できる可能性がある。新たな治療法のために役立つ情報といえる。

研究成果の概要(英文)：Cholinergic interneurons substantially regulate physiological functions of the striatum. We investigated the ionic mechanisms controlling the neural activity of the cholinergic neurons and the regional effects of nicotinic receptors on synaptic transmissions in the caudal striatum. Excitatory glutamatergic inputs to the cholinergic neurons were suppressed by high frequency stimulation in conjunction with an agonist of mu opioid receptors. The prolonged suppression was eminent in the medial part of the striatum and disturbed by an $\alpha 2$ nAChR antagonist, suggesting the involvement of intrinsic acetylcholine. The synergistic effect of acetylcholine and opioid was heterogeneously observed with medio-lateral axes. Considering the synergistic effect of opioid and intrinsic acetylcholine on the synaptic plasticity there might be a regional diversity in the effect of acetylcholine on the reinforcement learning and adaptive behaviors.

研究分野：神経科学

キーワード：アセチルコリン オピオイド ドーパミン 大脳基底核 線条体

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

大脳基底核の線条体は運動機能を担うとともに、習慣形成、行動選択や価値判断にも関わる。そうした機能にはある程度の部位局在があり、機能領域に分かれていると考えられる。それぞれの機能領域は、運動、習慣形成、行動選択や価値判断を異なる割合で担い、一部は安全信号学習を担うと考えられてきた。

背側線条体はストリオソームとマトリックスの機能領域に分かれ、複雑な行動選択にはストリオソームが関わっている^{1, 2)}。そして尾側線条体においても形態学的に新たな領域が見つかっている³⁾。尾側線条体は辺縁系と関連が深く、そのため情動に関連した学習機能を担うことが示唆されている。

内在性コリン作動性ニューロンは線条体の機能領域を特徴づける主要な要素である。アセチルコリンは運動制御、強化学習や習慣形成に、ドーパミンとともに、関わっている。近年、背側線条体のマトリックスの生理機能に、アセチルコリンが様々な神経伝達分子と相互作用しながら関わっていることが明らかにされている。しかし、背側のストリオソームや、尾側線条体においては、そうした調節機構はよく調べられていない。

2. 研究の目的

コリン作動性ニューロンは常に 5-20 Hz で発火している。わずかな膜電位の変化で大きく発火頻度を変える。この発火はドーパミンを始め、多く因子によって調節されている。コリン作動性ニューロンの発火頻度を調節するイオン機構と、その薬理的な調節因子を探索する。そのうえで機能領域間での特徴の違いを明らかにしていく。

オピオイドも線条体に多く含まれ、機能調節に関わっている。特にシナプス入力を抑制し、条件によっては長期抑制をもたらす。興奮性入力 of 長期的可塑性は、強化学習や行動適応の神経基盤と考えられる。線条体でのアセチルコリンの重要性を考えれば、ニコチン受容体とオピオイド受容体の協調作用、あるいは拮抗作用があると予想される。そこでオピオイドの作用に対する内在性アセチルコリンの関与を調べる。

コリン作動性ニューロン自身の神経活動の調節機構は、線条体の機能領域の生理機能の特徴的に修飾する因子であり、そのため薬物の主要なターゲットとなりうる。他の神経伝達物質との相互作用を明らかにすることも、背側や尾側線条体の機能と調節機構を考えるうえで興味深い課題と考える。

3. 研究の方法

線条体の機能領域から選択的に電気記録を行うことは簡単ではなかったが、効率的に記録できるように方法を改良した。蛍光タンパク GFP、YFP を細胞特異的に発現させた動物を複数組み合わせることで、機能領域と神経細胞を同時に同定した⁴⁾。この方法を用いて、まず背側線条体の機能領域から電気記録を行う。記録電極に biocytin を入れておき、記録後にニューロンの種類を確認する。機能領域でのニコチン受容体の作用に部位的な違いがあると予想し、ニコチン受容体がコンパートメントの神経活動に対する作用を測定し、マトリックスとストリオソーム間で比較する。尾側線条体では、コリン作動性ニューロンのマーカーであるコリンアセチルトランスフェラーゼ (ChAT) の染色と YFP の特異的発現から、ニューロンの分布を定量する。その情報を元に、オピオイドとアセチルコリンの作用がどのように干渉するかを確かめる。

4. 研究成果

(1) 背側線条体の生理機能に重要なコリン作動性インターニューロンと機能領域の関連を、ニコチン受容体に着目して調べた。背側線条体では、ストリオソームに比べて、マトリックスのコリンエステラーゼの発現が多い。これはコリン作動性神経の支配がマトリックスでより強いことを示している。そこで、機能的にもアセチルコリンの作用が異なるかどうかを調べた。

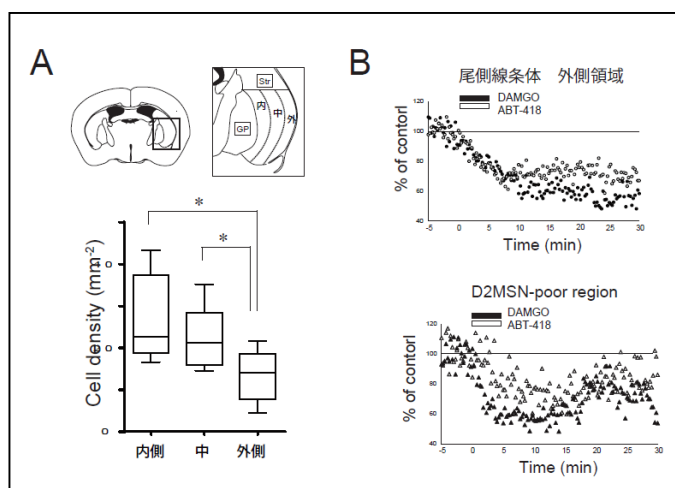
最初に、コリン作動性ニューロンを発火によってニコチン受容体依存性に GABA 性抑制性シナプス後電流 (IPSC) を誘発できること⁵⁾、GABA 性 IPSC はコリン作動性ニューロンに再帰的に入力し膜電位を過分極させることで活動電位の頻度を下げること確かめた。

このニコチン受容体依存性 GABA 性 IPSC の大きさと誘発頻度を、マトリックスとストリオソームで比較した。ニコチン受容体の GABA 性 IPSC 誘発作用がマトリックスで優位なことを電気生理学的手法と形態学的手法を組み合わせることで明らかにした。ニコチン受容体の GABA 性 IPSC 誘発作用は、ニコチン受容体作動薬で減弱することから、ニコチン受容体の脱感作があることが考えられた。一方、ポジティブアロステリックモジュレーターによっては増強された。このことは、ニコチン受容体関連薬によって、背側線条体のストリオソームとマトリックスへの抑制性入力を調節できること、それによって機能領域の活動を調節できることを示す結果といえる。

(2) コリン作動性ニューロンの電氣的活動は、膜にあるイオンチャンネルがその基盤である。イオンチャンネルに作用する因子も、電気活動に強く影響を与える。コリン作動性ニューロンは強化学習の成立に伴って 3 相性 (initial excitation, pause, rebound excitation) の応答を生じるようになる。Rebound excitation には、先行する過分極が必要であることが分かっている。そこで過分極により活性化される I_h 電流に着目した。また、 I_h 電流への作用が予想される

吸入麻酔薬 sevoflurane の影響を調べた。吸入麻酔薬 sevoflurane は I_h 電流を濃度依存的に抑制した。薬理的に I_h 電流を ZD7288 によって阻害するとすると rebound excitation が抑制された。Sevoflurane でも、同様に rebound excitation が抑制されることを示した。Rebound excitation が関わる 3 相性の発火パターンは学習後に見られ、学習によって獲得した行動の発現に関わると考えられている。Rebound excitation を抑制する薬剤は、学習後の行動に影響を与える可能性がある。

(3) 尾側線条体のコリン作動性ニューロンの分布密度を明らかにし、ニコチン受容体とオピオイドの相互作用を領域別に検討した。これまで尾側のコリン作動性ニューロンの分布は詳しく調べられてこなかった。Drd1-YFP マウスを用いて、分布を定量的に調べたところ、外側領域に比べて、内側領域の分布密度が高かった (図 A)。それに対し、前後 (吻側 尾側) 軸、背腹軸の分布は同様であった。また尾側では 4/2 ニコチン受容体刺激がオピオイドの作用を増強し、興奮性シナプス後電流 (EPSC) の長期抑圧現象を引き起こすことを見出した (図 B)。



興味深いことに、記録している細胞の近傍を高頻度刺激 (100Hz, 100 pulse) しながら μ オピオイド受容体作動薬を投与しても EPSC の長期抑圧現象を誘導した。ニコチン受容体阻害薬は、オピオイドの抑制作用の持続を逆に短縮したので、内因性のアセチルコリンがオピオイドの作用を長期化する方向に働くと考えられる。このニコチン受容体とオピオイドの協調、対立作用は尾側外側領域で著明であった。近年、恐怖条件付けの消去に伴って、尾側線条体の神経活動が変化することが報告された。本研究で見つけた可塑性とアセチルコリンとオピオイドが相互作用の違いは、尾側線条体でも領域特異的な調節機能があり、それぞれが異なる比率で線条体の生理機能に関わることを示唆する結果である。

< 引用文献 >

- Schulz JM, Reynolds JN. Pause and rebound: sensory control of cholinergic signaling in the striatum. *Trends Neurosci.* 2013; 36: 41-50.
- Gangarossa G, Espallergues J, Mailly P et al. Spatial distribution of D1R- and D2R-expressing medium-sized spiny neurons differs along the rostro-caudal axis of the mouse dorsal striatum. *Front Neural Circuits* 2-13; 7: 124.
- Miyoshi G, Hjerling-Leffler J, Karayannis T et al. Genetic Fate Mapping Reveals That the Caudal Ganglionic Eminence Produces a Large and Diverse Population of Superficial Cortical Interneurons. *J Neurosci* 2010; 30: 1582 - 1594.
- Miura M, Saino-Saito S, Masuda M et al. Compartment-Specific Modulation of GABAergic Synaptic Transmission by μ -Opioid Receptor in the Mouse Striatum with Green Fluorescent Protein-Expressing Dopamine Islands. *J Neurosci* 2007; 27: 9721 - 9728.
- Miura M, Ishi K, Aosaki T et al. Chronic nicotine treatment increases GABAergic input to striatal neurons. *Neuroreport* 2006; 17: 537 - 540

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 3 件)

- Sugasawa Y, Fukuda M, Ando N, Inoue R, Nakauchi S, Miura M, Nishimura K. Modulation of hyperpolarization-activated cation current I_h by volatile anesthetic sevoflurane in the mouse striatum during postnatal development. *Neurosci Res.* 2017 132: 8-16.
- Akiba C, Nakajima M, Miyajima M, Ogino I, Miura M, Inoue R, Nakamura E, Kanai F, Tada N, Kunichika M, Yoshida M, Nishimura K, Kondo A, Sugano H, Arai H. Leucine-rich α 2-glycoprotein overexpression in the brain contributes to memory impairment. *Neurobiol Aging.* 2017 60: 11-19.
- Inoue R, Suzuki T, Nishimura K and Miura M Nicotinic acetylcholine receptor-mediated GABAergic inputs to cholinergic interneurons in the striosomes and the matrix compartments of the mouse striatum. *Neuropharmacol.* 2016, 105:318-328.

[学会発表] (計 13 件)

- Miura M, Inoue R. An allosteric modulator of α 4 β 2 nicotinic acetylcholine receptor potentiates GABAergic inputs to cholinergic interneurons in the mouse striatum. CINP 2016 国際神経薬理学会、ソウル COEX 2016/7/3-5.

Inoue R., Miura M. Nicotinic and opioidergic modulation on inhibitory inputs to cholinergic interneurons in the striosomes and the matrix of the mouse striatum Dopamine 2016, ウィーン、2016/9/5-8.

井上律子、三浦正巳 「線条体機能領域におけるコリン作動性ニューロンへの興奮性入力調節の特異性」 Specificity of the modulation of excitatory inputs to cholinergic interneurons in the striatal functional modules 首都大学東京バイオカンファレンス 2018 首都大学東京八王子キャンパス 2018年11月16日

Masami Miura, Ritsuko Inoue, and Sakura Nakauchi 「ニコチン受容体によるコリン作動性ニューロンへの興奮性入力の調節」 Activation of nicotinic acetylcholine receptors modulates excitatory inputs in the striatal cholinergic neurons 第41回日本神経科学大会 神戸コンベンションセンター 2018年7月26-29日

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

取得状況(計 0件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

(2)研究協力者

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。