

令和元年6月7日現在

機関番号：63905

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K01968

研究課題名(和文) 線条体のシグナル分子が制御する大脳基底核の神経活動と運動機能の解明

研究課題名(英文) Relation between neuronal activity in the basal ganglia and voluntary movements regulated by striatal signal transduction.

研究代表者

佐野 裕美 (Sano, Hiromi)

生理学研究所・システム脳科学研究領域・助教

研究者番号：00363755

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：大脳基底核と呼ばれる脳の領域の中には、線条体と呼ばれる領域が含まれている。線条体は自らの意思で動こうとする随意運動の制御に重要であることが知られている。線条体に他の脳領域から信号が伝わると、他の脳領域にその信号を伝えようと線条体の細胞は反応する。この反応には、シグナル伝達分子と呼ばれる分子が活性化することが重要である。シグナル伝達分子の活性化と運動と神経の活動との関係を明らかにするため、遺伝子組換え技術を利用して、活性化したシグナル伝達分子をマウスの線条体に発現させ、運動と神経活動の記録を行った。シグナル伝達分子の活性化は、線条体からの信号を増強し、運動を促進させることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

大脳基底核はパーキンソン病やハンチントン舞蹈病などの重度な運動障害を示す疾患と深く関わっており、線条体は創薬の標的となってきた領域である。線条体におけるシグナル伝達分子を活性化させたところ、線条体からの信号を増強し、運動を増加させたという研究成果を得たが、この結果は、このシグナル伝達分子が創薬の標的となることを示唆している。この研究成果を元に、シグナル伝達分子に作用する化合物などが合成されれば、大脳基底核に関連する運動障害を示す疾患の治療に繋がる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：The striatum is one of the input nuclei of the basal ganglia and supposed to regulate voluntary movements. Striatal projection neurons receive information by neurotransmitters which are released from the other nuclei of the basal ganglia. After receive the neurotransmitter, signal molecules in the striatum are activated and striatal projection neurons send the information to other brain regions. To clarify the relation between activity of the signal molecule, neuronal activity of the basal ganglia and voluntary movements, we used gene transfer technique to express the dominant active form of the signal molecule in the striatum and recorded behavioral changes and neuronal activities. The dominant active form of the signal molecule in the striatum increased information flow from the striatum and facilitated voluntary movements.

研究分野：分子神経生理学

キーワード：随意運動 大脳基底核 神経生理学 シグナル伝達

1. 研究開始当初の背景

線条体は大脳基底核と呼ばれる脳領域を構成する一つの神経核であり、運動の制御に重要であることが知られている。重篤な運動障害を主症状とするパーキンソン病が、線条体に投射する黒質網様部のドパミンニューロンの脱落に起因することから、線条体のドパミン神経伝達が運動の制御に重要であることは教科書的にもよく知られてきた。線条体には、線条体-黒質投射ニューロンと線条体-淡蒼球外節投射ニューロンの二種類の投射ニューロンが存在し、線条体-黒質投射ニューロンにはドパミン D1 受容体が、線条体-淡蒼球外節投射ニューロンにはドパミン D2 受容体が発現している。しかし、これらの受容体の下流にあるシグナル伝達分子が大脳基底核の神経活動にどのように影響を与え、運動をどのように制御しているのか、その関係はほとんど解明されていなかった。

そこで、ウイルスベクターを利用して線条体-黒質投射ニューロンあるいは線条体-淡蒼球外節投射ニューロン特異的に、ドパミン神経伝達において重要な役割を果たすことが知られているプロテインキナーゼ A (protein kinase A, PKA) の dominant active あるいは dominant negative を発現させ、神経活動の変化と行動の変化を解析すれば、シグナル伝達に関わる分子と神経活動と行動制御の三者の関係を解明できるのではないかと着想した。

2. 研究の目的

線条体-黒質投射ニューロンに発現する D1 受容体は、 G_{olf} タンパクを介してアデニル酸シクラーゼ活性、cAMP 産生、PKA 活性を促進し、もう一方の線条体-淡蒼球外節投射ニューロンに発現する D2 受容体は、 G_i タンパクを介してアデニル酸シクラーゼ活性、cAMP 産生、PKA 活性を抑制することが知られてきたが、線条体投射ニューロンの PKA 活性が大脳基底核の神経活動の調節にどのように関わっているのか、あまり知られていない。そこで、ウイルスベクターを利用して、線条体-黒質投射ニューロン特異的に PKA 活性を操作し、大脳基底核の神経活動の変化と運動機能の変化を解析する。分子生物学的手法と電気生理学的解析と行動学的解析を組み合わせ、シグナル伝達に関わる分子と神経活動と行動制御の三者の関係を明らかにすることが本研究の目的である。

3. 研究の方法

(1) ウイルスベクターをマウスの線条体に注入して、線条体-黒質投射ニューロン特異的に PKA の dominant active (DA) を発現させた。PKA の DA の発現が、線条体-黒質投射ニューロンに特異的であるのかどうかを組織化学的に確認した。

(2) 線条体-黒質投射ニューロンにおける PKA の活性が大脳基底核の神経活動に及ぼす影響を記録した。大脳基底核の神経活動は麻酔薬の影響を受けやすいことが一般的に知られているため、ウイルスベクターを注入したマウスを覚醒下で無痛的に脳定位装置に覚醒下で保定し、線条体の投射先である淡蒼球外節、黒質網様部などの大脳基底核を構成する神経核の活動を記録した。自発発火頻度、自発発火パターンの解析に加え、大脳皮質運動野から大脳基底核への入力を模倣するように、大脳皮質運動野に電気刺激を与え、電気刺激に対する一過性の応答パターンを解析した。これらの実験により、標的とした線条体-黒質投射ニューロンでの PKA の活性の変化が大脳基底核神経回路での情報処理にどのように影響を与えたのかを解析した。

(3) 標的とした線条体-黒質投射ニューロンにおける PKA の活性の変化が、自発運動に与える影響を行動学的に解析した。ホームケージや新規環境下などにおいて、ウイルスベクターを注入したマウスの運動を観察し、線条体-黒質投射ニューロンでの PKA の活性の変化が運動機能に与える影響を解析した。

4. 研究成果

(1) 2 種類のアデノ随伴ウイルスベクターをマウスの線条体に注入し、線条体-黒質投射ニューロン特異的に PKA の DA を発現させた。線条体-黒質投射ニューロンのマーカーであるドパミン D1 受容体や線条体-淡蒼球外節投射ニューロンのマーカーであるドパミン D2 受容体と、PKA の DA の発現を組織化学的に解析したところ、PKA の DA は D1 受容体を発現する細胞に発現しており、線条体-黒質投射ニューロンに発現していることが明らかとなった。さらに、PKA の DA は線条体-黒質投射ニューロンの細胞体のある線条体だけでなく、線条体-黒質投射ニューロンの投射先である黒質網様部において、神経終末にも発現していることが認められた。

(2) 線条体-黒質投射ニューロンに PKA の DA を発現させたマウスの自発運動を観察した。片側の線条体にウイルスベクターを注入して PKA の DA を発現させたマウスの自発運動をホームケージと新規環境下において観察した。顕著な回転運動が認められるのではないかと予測していたが、特に顕著な運動の変化は認められなかった。しかし、マウスの尾を持って逆さ釣りにした尾懸垂の状態での行動を観察したところ、ウイルスベクターの注入側とは反対側へ動こうとする顕著な傾向が認められた。この運動変化から、線条体-黒質投射ニューロンに発現させた PKA の DA が運動の促進に作用していることが示唆された。

(3) 線条体-黒質投射ニューロンに PKA の DA を発現させたマウスの神経活動を記録した。覚醒下でマウスをステレオ装置に保定して、線条体投射ニューロンの投射先である淡蒼球外節と黒質網様部において単一細胞における細胞外記録により神経活動の記録を行った。その結果、淡蒼球外節においても黒質網様部においても、自発発火頻度や自発発火パターンには有意な影響が認められなかった。そこで次に、大脳皮質運動野に刺激電極を留置し、大脳皮質を電気刺激したときの応答を記録した。正常なマウスでは、大脳皮質運動野を電気刺激すると、淡蒼球外節や黒質網様部で、「早い興奮-抑制-遅い興奮」からなる一過性の三相性の応答が認められることが知られている。線条体-黒質投射ニューロンに PKA の DA を発現させたマウスでは、淡蒼球外節においても黒質網様部においても、正常なマウスと同様に一過性の三相性の応答が認められた。しかし、黒質網様部においては、抑制の持続時間が有意に延長していた。これまでの研究から、大脳皮質運動野を刺激したときに黒質網様部で認められる「早い興奮」は、大脳皮質-視床下核-黒質網様部を介する経路、「抑制」は大脳皮質-線条体-黒質網様部を介する経路、「遅い興奮」は大脳皮質-線条体-淡蒼球外節-視床下核-黒質網様部を介する経路であると考えられている。今回の結果から、線条体-黒質投射ニューロンに PKA の DA を発現させたマウスでは、大脳皮質-線条体-黒質網様部を介する情報伝達が増強していると考えられる。

(4) 行動学的解析と電気生理学的解析の結果から、線条体-黒質投射ニューロンにおいて PKA の活性を上昇させると、線条体-黒質投射ニューロンを介する神経伝達が増強し、その結果、自発運動が上昇することが示唆された。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 9 件)

Sano H, Nambu A. The effect of zonisamide on L-DOPA-induced dyskinesia in Parkinson's disease model mice. *Neurochem Int*, 査読有, 124, 2019, 171-180

DOI:10.1016/j.neuint.2019.01.011

Okada Y, Sumioka T, Ichikawa K, Sano H, Nambu A, Kobayashi K, Uchida K, Suzuki Y, Tominaga M, Reinach PS, Hirai SI, Jester JV, Miyajima M, Shirai K, Iwanishi H, Kao WW, Liu CY, Saika S. Sensory nerve supports epithelial stem cell function in healing of corneal epithelium in mice: the role of trigeminal nerve transient receptor potential vanilloid 4. *Lab Invest*, 査読有, 99(2), 2019, 210-230

DOI: 10.1038/s41374-018-0118-4. Epub 2018 Nov 9.

Kaneko N, Herranz-Pérez V, Otsuka T, Sano H, Ohno N, Omata T, Nguyen HB, Thai TQ, Nambu A, Kawaguchi Y, García-Verdugo JM, Sawamoto K. New neurons use Slit-Robo signaling to migrate through the glial meshwork and approach a lesion for functional regeneration. *Sci Adv*, 査読有, 4(12), 2018, eaav0618

DOI:10.1126/sciadv.aav0618. eCollection 2018 Dec

Nonomura S, Nishizawa K, Sakai Y, Kawaguchi Y, Kato S, Uchigashima M, Watanabe M, Yamanaka K, Enomoto K, Chiken S, Sano H, Soma S, Yoshida J, Samejima K, Ogawa M, Kobayashi K, Nambu A, Isomura Y, Kimura M. Monitoring and Updating of Action Selection for Goal-Directed Behavior through the Striatal Direct and Indirect Pathways. *Neuron*, 査読有, 99(6), 2018, 1302-1314

DOI:10.1016/j.neuron.2018.08.002

Bouchekioua Y, Tsutsui-Kimura I, Sano H, Koizumi M, Tanaka KF, Yoshida K, Kosaki Y, Watanabe S, Mimura M. Striatonigral direct pathway activation is sufficient to induce repetitive behaviors. *Neurosci Res*, 査読有, 132, 2018, 53-57

DOI:10.1016/j.neures.2017.09.007

Ozaki M, Sano H, Sato S, Ogura M, Mushiake H, Chiken S, Nakao N, Nambu A. Optogenetic Activation of the Sensorimotor Cortex Reveals "Local Inhibitory and Global Excitatory" Inputs to the Basal Ganglia. *Cereb Cortex*, 査読有, 27(12), 2017, 5716-5726

DOI:10.1093/cercor/bhx234

Tsutsui-Kimura I, Takiue H, Yoshida K, Xu M, Yano R, Ohta H, Nishida H, Bouchekioua Y, Okano H, Uchigashima M, Watanabe M, Takata N, Drew MR, Sano H, Mimura M, Tanaka KF. Dysfunction of ventrolateral striatal dopamine receptor type 2-expressing medium spiny neurons impairs instrumental motivation. *Nat Commun*, 査読有, 8, 2017, 14304

DOI:10.1038/ncomms14304

Horie M, Mekada K, Sano H, Kikkawa Y, Chiken S, Someya T, Saito K, Hossain MI, Nameta M, Abe K, Sakimura K, Ono K, Nambu A, Yoshiki A, Takebayashi H. Characterization of novel dystonia musculorum mutant mice: Implications for central nervous system abnormality. *Neurobiol Dis*, 査読有, 96, 2016, 271-283

DOI:10.1016/j.nbd.2016.09.016

Kobayashi K, Sano H, Kato S, Kuroda K, Nakamura S, Isa T, Nambu A, Kaibuchi K, Kobayashi K. Survival of corticostriatal neurons by Rho/Rho-kinase signaling pathway. *Neurosci Lett*, 査読有, 630, 2016, 45-52

〔学会発表〕(計 13 件)

Sano H, Kobayashi K, Kato S, Chiken S, Kobayashi K, Nambu A. Physiological and anatomical organization of cortico-striatal inputs in the basal ganglia. FAOPS2019、2019 年

Sano H, Tanaka KF, A Nambu. Neuronal responses and movements induced by concurrent activation of striatonigral and striatopallidal neurons. FENS2018、2018 年

Sano H, Nambu A. Physiological roles of striatal projection neurons revealed by optogenetics. 第 95 回日本生理学会大会、2018 年

Sano H. Information flow for motor control by striatal projection neurons. Stockholm-Okazaki Workshop on Multi-scale dynamics of basal ganglia in brain function and dysfunction、2018 年

Sano H, Tanaka KF, A Nambu. Concurrent activation of striatal medium spiny neurons induced involuntary movements similar to L-DOPA induced dyskinesia. International Symposium on Adaptive Circuit Shift 2017, Behavioral adaptation and functional recovery from pathological state、2017 年

Sano H, Kobayashi K, Kato S, Chiken S, Kobayashi K, Nambu A. Response in the basal ganglia induced by cortico-striatal neurons. 第 40 回日本神経科学大会、2017 年

Sano H, Kobayashi K, Kato S, Chiken S, Kobayashi K, Nambu A. Cortico-striatal induced responses in the basal ganglia. International symposium, Neural Oscillation Conference 2017, Problems of Consciousness and Neuropsychiatric Disorders as Network Disease、2017 年

Sano H, Kobayashi K, Kato S, Chiken S, Kobayashi K, Nambu A. Cortico-striatal induced responses in the basal ganglia. 12th International Basal Ganglia Society Meeting、2017 年

佐野裕美 遺伝子改変マウスを用いて大脳基底核の機能と運動異常症の病態に関する研究、第 6 回生理研-霊長研-新潟脳研合同シンポジウム、2017 年

佐野裕美 線条体投射ニューロンによる運動調節機構の解明、次世代脳プロジェクト冬のシンポジウム「適応回路シフト」「記憶ダイナミズム」「マイクロ精神病態」三領域合同若手シンポジウム、2016 年

Sano H. Physiological roles of cortico-striatal neurons in the basal ganglia. 6th Joint CIN-NIPS Symposium、2016 年

Sano H, Tanaka KF, A Nambu. Concurrent activation of striatonigral and striatopallidal neurons facilitates movements. 第 39 回日本神経科学大会、2016 年

Sano H. Molecular genetic approaches to understanding the physiological roles of the basal ganglia. Stockholm-Okazaki Symposium on Multi-Scale Structure & Dynamics of the Basal Ganglia、2016 年

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

6 . 研究組織

(1)研究協力者

研究協力者氏名：小林 憲太

ローマ字氏名：(KOBAYASHI kenta)

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。