

令和 4 年 6 月 16 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K06532

研究課題名(和文) 淡蒼球外節ニューロンの聴覚応答と基底核回路に与える影響の解析

研究課題名(英文) Auditory input to the external globus pallidus neurons and its functions in the basal ganglia network

研究代表者

平井 康治 (Hirai, Yasuharu)

北海道大学・医学研究院・博士研究員

研究者番号：30648431

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：大脳基底核は運動・体性感覚機能への寄与が良く調べられているが、特殊感覚への応答やその解剖学・生理学的性質はあまり知られていない。そこで、ラットの淡蒼球外節に着目してin vivoの電気活動記録を行い、音刺激に対する応答を調査した。その結果、従来の大脳基底核スキームに反して、多くのニューロンが興奮性に応答すること、応答するニューロンは淡蒼球外節の尾側側頭部に限局することを明らかにした。逆行性トレーサー標識により、この領域に入力する興奮性ニューロンは視床下核に加えて非毛帯系の聴覚関連視床・大脳皮質領域であり、出力先は刺激のサリエンスに反応するドーパミン細胞のある黒質外側部であることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

大脳基底核はほぼ全ての脳皮質領域から入力を受けており、運動、認知、情動、学習など多くの機能に関わっている。淡蒼球外節は線条体から抑制性の入力を受け、大脳基底核全体に脱抑制により情報を伝達するとされる間接路の主要神経核である。聴覚を含む特殊感覚が淡蒼球外節を介して大脳基底核の活動にどのように影響を与えるのかについてはまだほとんどわかっていない。本研究では、従来の大脳基底核スキームと反した、興奮性の音刺激応答や、音応答する淡蒼球外節領域の主要な入出力経路を明らかにできた。これらは今後、パーキンソン病患者でしばしば見られる幻聴の発生機序の解明やその対策に寄与する基礎情報となることが期待できる。

研究成果の概要(英文)：The basal ganglia are well studied from the aspect of somato-motor functions. However, the anatomical and physiological features of special sense processing of the basal ganglia is mostly unknown. We obtained in vivo unit recordings from rat external globus pallidus (GPe) neurons and found most of them responded to the sound excitatory. The sound responded neurons were limited to the caudo-lateral part of GPe. Retrograde tracer injections revealed that the prospective origins of the excitatory responses were lateral part of the subthalamic nucleus, medial division of the medial geniculate thalamic nucleus and lateral cortical areas including higher-order auditory and limbic areas, where are the parts of "non-lemniscal auditory pathway". Furthermore, we confirmed that caudo-lateral GPe projected to the lateral part of the substantia nigra (SNpl). It indicated that the sound-responded GPe neurons may contribute to the function of saliency responded dopamine neurons in the SNpl.

研究分野：神経科学

キーワード：大脳基底核 聴覚 淡蒼球外節 ラット 電気生理学

(1) in vivo 細胞外ユニット記録と記録後の組織実験：

ウレタン麻酔を施したラットを頭部固定し、前頭皮質から皮質脳波を記録しながら、微小ガラス管電極を用いた単一細胞ユニット記録を淡蒼球外節ニューロンより取得した。ユニット記録中に、記録している脳半球と対側、もしくは同側の耳にそれぞれ 50 msec の純音刺激を 0.5-60 kHz の音周波数、10-90 dB の音圧で与え、音受容野を調査した。

記録後に、傍細胞染色法によりガラス管内液に含めたニューロンビオチンで記録細胞を標識した。1日の全記録後に動物を灌流固定して固定脳標本を得た

固定脳の薄切脳切片を作成し、ニューロビオチンを蛍光染色することで記録細胞の淡蒼球内での位置を同定した。染色に成功したいくつかの細胞については更に免疫染色法を用いて発現物質の同定を行い、ニューロンサブタイプを調べた。

傍細胞染色が得られなかった細胞については、ユニット記録時の電極の位置をマニピュレーターの座標記録から求め、ラット脳アトラスを用いて淡蒼球外節中の位置を決定した。

(2) 音応答の見られた淡蒼球外節領域への神経トレーサーの注入：

三種混合麻酔またはケタミン・キシラジンで麻酔したラットを頭部固定し、(1)で音応答が見られた淡蒼球外節領域に逆行性の神経トレーサー (cholera toxin subunit B または fluorogold) または蛍光タンパク質を発現させるアデノ随伴ウイルス (AAV) を圧注入した。

麻酔から回復後適切な日数 (逆行性神経トレーサー：4 - 6 日、AAV：14 日以上) 飼育した動物を灌流固定し、固定脳標本を得た。

薄切脳切片を作成した後、脳領域を同定するための各種抗体による免疫染色も組み合わせながら、軸索投射先や逆行性標識された細胞の位置する脳領域を調査した。

(3) 淡蒼球外節ニューロンの投射領域の組織的手法による確認：

実験(2)により、淡蒼球外節の尾側側頭部は黒質外側部に軸索投射先することがわかったが、隣接する線条体の尾側側頭部も同じ領域に軸索投射をすることが同時期に所属研究室で判明していた。トレーサーの拡散による線条体への漏れが結果に影響を与えていないことを確認するために、(2)と同様の手法で黒質外側部を中心に逆行性神経トレーサーを注入し、尾側側頭部の淡蒼球外節ニューロンが確かに標識されることを確認した。本実験は線条体尾側側頭部の回路解析の為の研究の一環としてマウスでも同様に行った。

4. 研究成果

(1) in vivo 細胞外ユニット記録の実験により、以下の知見を得た：

淡蒼球外節ニューロンの音応答は尾側側頭部 (The Rat Brain 6th edition, G. Paxinos and C. Watson において Bregma -2.34 mm から -2.87 mm) でのみ見られ、吻側部では見られなかった (図 2)。

音応答は記録した淡蒼球外節の反対側の耳への音刺激でのみ見られ、同側への刺激は影響を与えなかった。

多くの淡蒼球外節ニューロンは音刺激に対して興奮性に応答した。一部のニューロンでは抑制性の応答も見られ、抑制の後に興奮する細胞も見られた (図 3 上)。

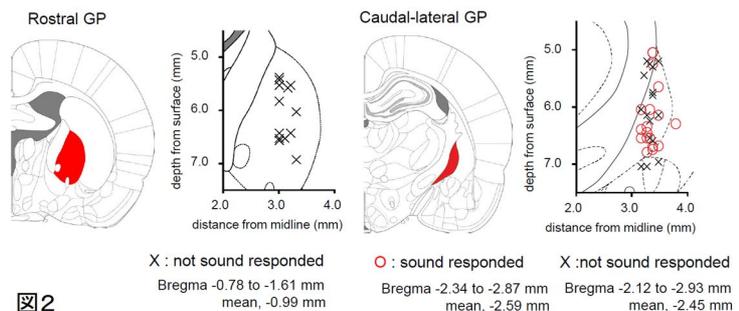


図 2

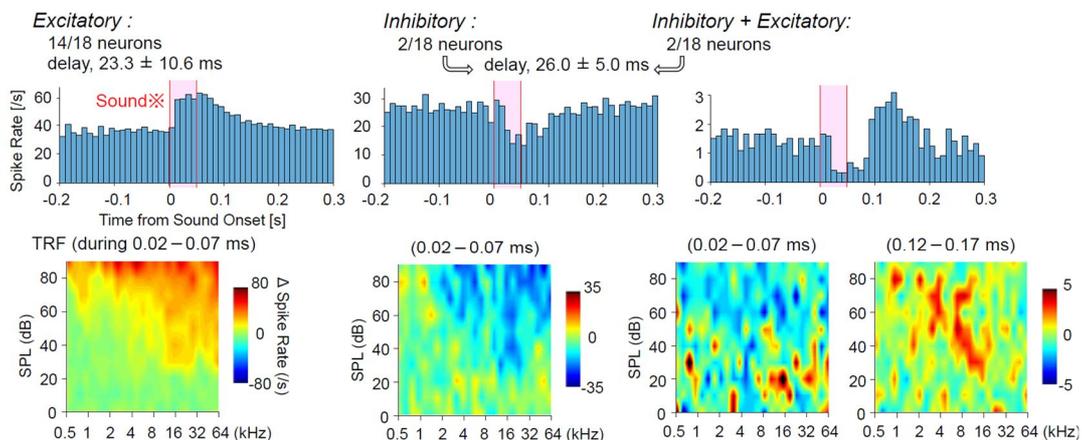


図 3

淡蒼球外節の音受容野はやや広いV字型を示した(図3下)

高頻度の自発発火から prototypic サブタイプと見られるニューロンは脳波の同期時(徐波睡眠)と非同期時で応答の違いがほとんど見られなかったが、arkypallidal サブタイプと見られる低頻度発火のニューロンは非同期時のみで音に応答する違いを見せた(図4)

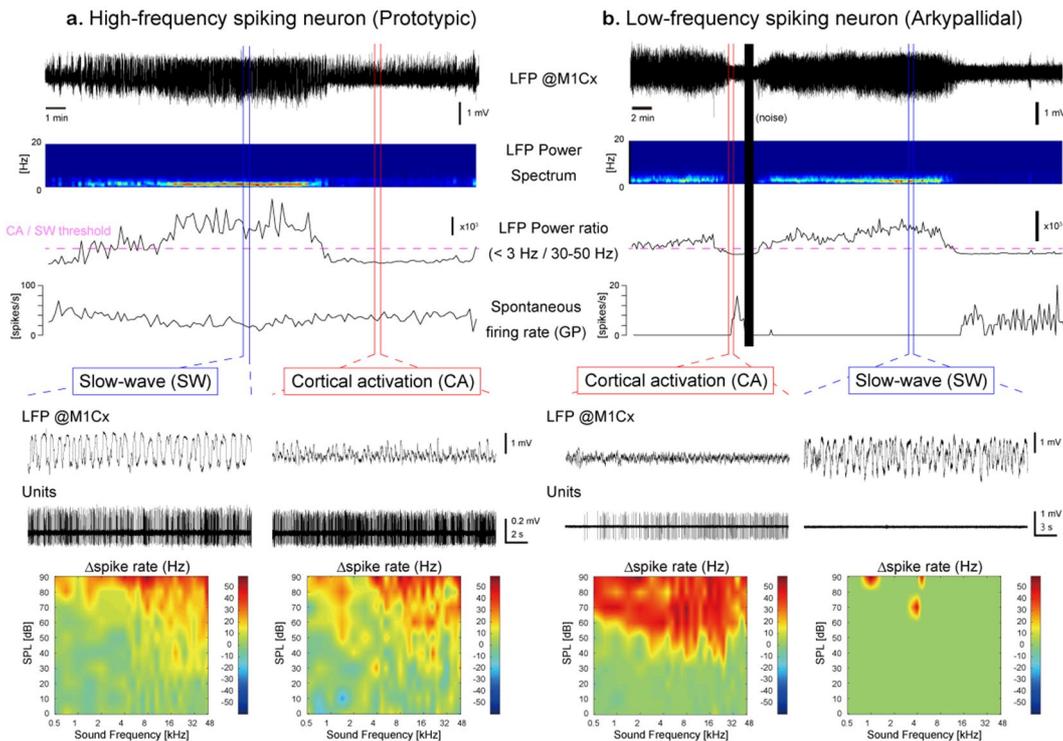


図4

の結果は、従来の基底核回路モデル(図1左)における、「淡蒼球外節は線条体からの抑制性入力を受ける」のみではなく、近年の研究で報告されるようになった大脳皮質などからの興奮性入力の存在(図1右)を反映している可能性がある。音刺激から音応答の遅れを計算したところ、興奮性入力の方が抑制性入力よりわずかに早く生じていた(図3)。これは「大脳皮質 線条体 淡蒼球外節」の抑制性投射より「大脳皮質 淡蒼球外節」の興奮性投射のほうが経シナプスが少なく一致しており、可能性を強化する結果であった。しかしながらその他の興奮性入力経路の寄与も十分考えられるので、次の神経トレーサー実験においては興奮性入力元の脳領域の探索に焦点を当てた。

(2) 逆行性神経トレーサーの注入実験により、淡蒼球外節の音応答領域へ投射する終脳中の脳部位を確認した。その領域に存在する投射ニューロンの既知の性質から、グルタミン酸作動性(興奮性) GABA 作動性(抑制性) モノアミン作動性(ドーパミンやセロトニンなど)の入力元として分類した結果、以下の様になった。

グルタミン酸作動性(図5赤): 視床下核、大脳皮質側頭部、内側膝状体内側部
 GABA 作動性(図5青): 線条体、扁桃体中心核
 モノアミン作動性(図5緑): 黒質外側部(ドーパミン)、背側縫線核(セロトニン)

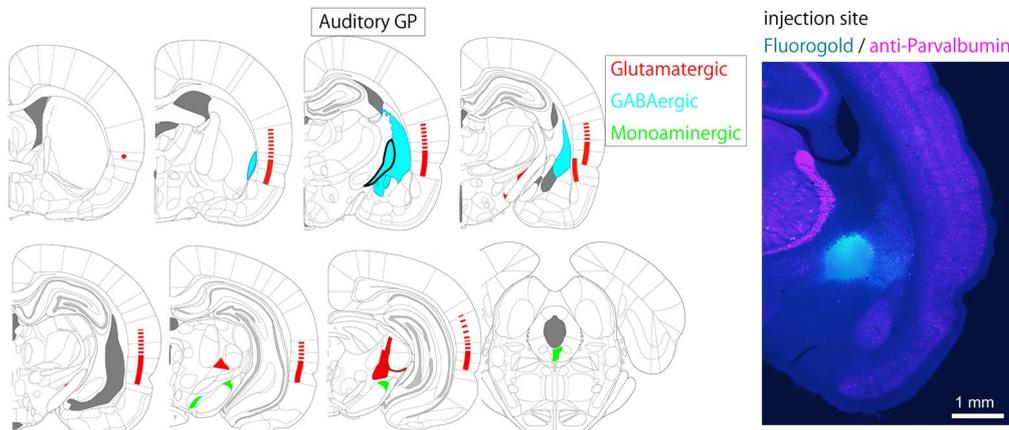


図5

これらの入力は全て、調査した淡蒼球外節と同側の脳半球からのみ生じていた。

大脳皮質側頭部では二次聴覚野など高次の聴覚野や辺縁皮質で主に逆行性標識が見られたが、当初想定した一次聴覚野ではほとんど見られなかった。高次聴覚野や内側膝状体内側部は非毛帯系(non-lemniscus)の聴覚経路に分類されており、マルチモーダルの感覚刺激を受容すると考えられていることから、淡蒼球外節は低次の感覚情報処理よりもむしろ高次機能に密接に関与している可能性が示唆された。

黒質外側部は線条体の尾側側頭部と相互の投射関係にあるが、近年のサルやマウスの研究で、線条体の尾側側頭部と黒質外側部の特殊性が様々報告されている(Ogata et al., 2022; Menegas et al., 2018, Gangarossa et al., 2013; Kim and Hikosaka 2013)。従って淡蒼球外節の感覚刺激への応答が、この特殊性に関係している可能性が示唆された。

(3) 淡蒼球外節ニューロンの投射領域を2つの手法で調査した：

蛍光タンパク質を発現する AAV の注入により投射軸索を可視化した結果、淡蒼球外節の従来の基底核モデル(図1右)で知られる視床下核、黒質外側部、外側の線条体、に加えて、内側膝状体内側部、下丘外側皮質など軸索が観察された。これらは全て同側で反対側への投射は見られなかった。

で確認された軸索が近傍の線条体尾側側頭部からでないことと、淡蒼球外節の尾側側頭部が、線条体尾側側頭部 黒質外側部投射経路の間接路として、並列な投射経路を作ること示すために、黒質外側部へ逆行性トレーサーを注入した。その結果、尾側側頭部の線条体、淡蒼球外節共に多くの標識細胞が見つかった。これは(2)の実験の推論を補強する結果となった。この実験は線条体尾側側頭部の投射を調査する研究の一環としてマウスでも行い、同様の結果を得た(Ogata et al., 2022; 図6)。

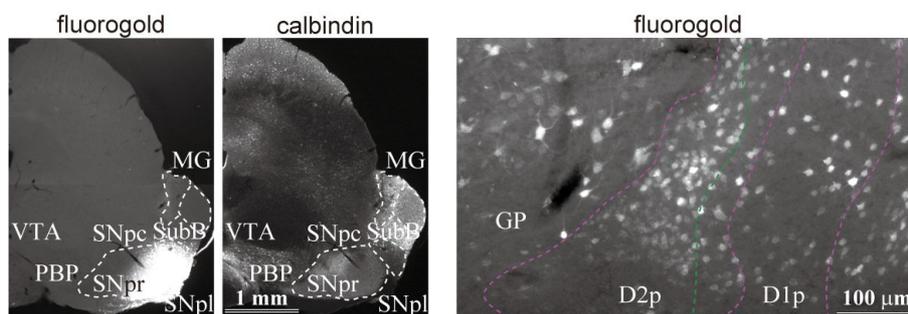


図6

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Ogata Kumiko, Kadono Fuko, Hirai Yasuharu, Inoue Ken-ichi, Takada Masahiko, Karube Fuyuki, Fujiyama Fumino	4. 巻 16
2. 論文標題 Conservation of the Direct and Indirect Pathway Dichotomy in Mouse Caudal Striatum With Uneven Distribution of Dopamine Receptor D1- and D2-Expressing Neurons	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Neuroanatomy	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fnana.2022.809446	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 平井康治、藤山文乃
2. 発表標題 ラット淡蒼球外節ニューロンの聴覚応答の解析
3. 学会等名 第43回 日本神経科学大会
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 Yasuharu HIRAI, Fumino FUJIYAMA
2. 発表標題 Auditory responses of the rat globus pallidus neuron subtypes
3. 学会等名 The 8th International Neural Microcircuit Conference（国際学会）
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 平井康治、藤山文乃
2. 発表標題 ラット淡蒼球外節ニューロンサブタイプの聴覚刺激応答パターンの解析
3. 学会等名 第97回日本生理学学会大会
4. 発表年 2019年～2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------