

平成 22 年 5 月 11 日現在

研究種目：基盤研究（B）
 研究期間：2007～2009
 課題番号：19300109
 研究課題名（和文） 線条体投射経路を介する行動制御の神経回路メカニズム
 研究課題名（英文） Neural circuit mechanisms of behavioral control through striatal projection pathways
 研究代表者 小林 和人 (KOBAYASHI KAZUTO)
 福島県立医科大学・医学部・教授
 研究者番号：90211903

研究成果の概要（和文）：

本研究課題では、イムノトキシン細胞標的法を利用して、弁別学習の発現における 2 種類の線条体投射経路の行動生理学的な役割を解析した。線条体－黒質路を除去したマウスの解析から、線条体－黒質路は、主に、弁別学習の反応速度の促進に関与し、反応の正答率には顕著な影響を及ぼさないことが示唆された。また、線条体－淡蒼球路を除去したラットの解析から、線条体－淡蒼球路は、弁別学習の正答率の向上に主要な役割を持ち、反応速度には顕著な影響を及ぼさないことが示唆された。

研究成果の概要（英文）：

In the present study, we addressed the behavioral and physiological roles of these two pathways in the performance of conditional discrimination task. The analysis of the transgenic mice that deleted the striatonigral pathway indicated that the striatonigral pathway is mainly involved in the facilitation of speed of learned motor response but does not affect the accuracy of response selection. In addition, the analysis of the transgenic rats that lacked the striatopallidal pathway revealed that the striatopallidal pathway plays an important role in the accuracy of response selection but does not influence speed of motor response in conditional discrimination task.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	6,200,000	1,860,000	8,060,000
2008 年度	2,800,000	840,000	3,640,000
2009 年度	2,800,000	840,000	3,640,000
年度			
年度			
総計	11,800,000	3,540,000	15,340,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：脳神経科学・神経科学一般

キーワード：学習、線条体、投射ニューロン、ドーパミン伝達、ドーパミン受容体、神経活動、遺伝子改変動物、イムノトキシン細胞標的法

1. 研究開始当初の背景

線条体は、運動制御、運動学習、強化学習などの重要な脳機能を媒介する大脳皮質—基底核ループ回路において中心的な役割を果たす。この領域の機能変化は、パーキンソン病、ハンチントン病、ジストニアなどの神経疾患の発病や病態と深く関係する。線条体には、形態・電気生理学的に異なる複数のニューロンタイプが存在し、線条体からの投射は主に2種類の経路（直接路と間接路）を介して出力核の活動に影響する。しかし、これらの2種類の投射経路が、線条体依存性の学習行動の発現にどのような役割を持っているのかについては十分に研究が進んでいない。

2. 研究の目的

本研究課題では、イムノトキシン細胞標的法を利用して、2種類の線条体投射経路のそれぞれを選択的に除去し、弁別学習課題を用いて、学習行動の実行にそれぞれの経路が担う行動生理学的な役割を明らかにする。さらに、ニューロン除去により行動変化を起こす神経基盤を解析し、2種類の投射経路が媒介する神経回路メカニズムの解明に取り組む。

3. 研究の方法

線条体—黒質路を除去するために、ドーパミンD1受容体(D1R)遺伝子座にヒトインターロイキン-2受容体 α サブユニットに黄色蛍光タンパク質を連結した融合遺伝子カセット(IL-2R α /YFP)を導入したノックイン変異型マウスを作製した。また、線条体—淡蒼球路を除去するために、ドーパミンD2受容体(D2R)をコードするbacterial artificial chromosome (BAC) クローンを利用してIL-2R α /YFP遺伝子カセットを導入したトランスジェニックラットを作製した。両者の遺伝子改変動物で導入遺伝子の発現することを免疫染色法を用いて確認した。これらの動物の背側線条体に適量の組み換え体イムノトキシンを定位脳手術法によって注入した。細胞除去の影響を視覚あるいは聴覚に依存した弁別学習課題を用いて評価した。レバー押しの正答率、反応速度、遅延反応率について分析した。また、自発運動、運動協調、反射、動機づけ行動についても解析した。

4. 研究成果

第一に、線条体—黒質ニューロンの弁別学習の実行における役割について解析した。イムノトキシン細胞標的法を用いて線条体—黒質ニューロンを除去するために、D1R-IL-2R α /YFPマウスの線条体に組換え体イムノトキシンを注入し、目的ニューロンが選択的に除去されていることを解剖学的に確認した。視覚弁別課題を利用し、この課題においてマウス

は2つのレバーのうち、視覚刺激が提示された側のレバーを押すと報酬が得られることを学習した。弁別課題を獲得させた後、イムノトキシン処理により線条体—黒質ニューロンの除去を誘導し、その後の学習発現における変化を解析した。ニューロンを除去したマウスでは、課題の正答率に変化はないものの、反応時間が有意に遅延することが明らかになった。反応時間の遅延は、学習課題の継続により、数日後までに回復した。一方、標的ニューロンの除去は、自発運動、反射（聴覚依存性の驚愕反応や熱性の逃避反応）、動機づけには影響しなかった。また、単一レバーを用いたレバー押しの反応速度にも変化は認められなかった。以上の結果から、線条体—黒質ニューロンは、学習と関係する運動反応の速度の制御に重要な役割を持つことが示唆された。

第二に、線条体—淡蒼球ニューロンの弁別学習の実行における役割について解析した。イムノトキシン細胞標的法を用いて線条体—淡蒼球ニューロンを除去するために、D2R-IL-2R α /YFPラットの線条体に組換え体イムノトキシンを注入し、目的ニューロンが選択的に除去されていることを解剖学的に確認した。弁別学習の課題として、聴覚弁別課題を利用し、この課題においてラットは2つのレバーのうち、2種類の異なる周波数の聴覚刺激を弁別してレバーを押すと報酬が得られることを学習した。弁別課題を獲得させた後、イムノトキシン処理により線条体—淡蒼球ニューロンの除去を誘導し、その後の行動の実行における変化を解析した。ニューロンを除去したマウスでは、課題の正答率が顕著に低下したが、反応時間や遅延反応率に有意に変化は生じなかった。正答率の低下は、学習課題の継続により、数日後までに回復した。一方、標的ニューロンの除去は、自発運動、聴覚依存性驚愕反応、動機づけには影響しなかった。以上の結果から、線条体—淡蒼球ニューロンは行動選択の正確性に重要な役割を持つことが示唆された。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 15 件)

- ① Kiyokage E., Pan Y., Shao, Z., Kobayashi, K., Szabo, Y., Yanagawa, Y., Obata, K., Okano, H., Toida, K., Puche, A.C., and Shipley, M.T. (2010) Molecular identity of periglomerular and short axon cells. **J. Neurosci.** 30 (3) 1185-1196. 査読有
- ② Contini, M., Lin, B., Kobayashi, K., Okano, H., Masland, R.H., and Raviola, E. (2010) Synaptic input of ON-bipolar cells onto the dopaminergic neurons of the mouse retina. **J. Comp. Neurol.** 518 (11) 2035-2050. 査読

- 有
- ③ 小林和人、深堀良二、甲斐信行、岡田佳奈、小林とも子 (2010) 道具的学習と行動制御を研究するモデル実験動物、生体の科学 Vol.61, No.1, pp. 47-52. 査読無
- ④ Mosharov EV, Larsen KE, Kanter E, Phillips KA, Wilson K, Schmitz Y, Krantz DE, Kobayashi K, Edwards RH, and Sulzer D. (2009) Interplay between cytosolic dopamine, calcium, and alpha-synuclein causes selective death of substantia nigra neurons. **Neuron** 62 (2) 218-229. 査読有
- ⑤ Biagioli, M., Pinto, M., Cesselli, D., Zaninello, M., Lazarevic, D., Simone, R., Vlachouli, C., Plessy, C., Bertin, N., Beltrami, A., Kobayashi, K., Gallo, V., Ferrer, I., Santoro, C., Rivella, S., Beltrami, C.A., Carninci, P., Raviola, E., and Gustincich, S. (2009) Unexpected expression of α - and β -globin in mesencephalic dopaminergic neurons and glial cells. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 106 (36) 15446-15451. 査読有
- ⑥ Cooper, M.A., Kobayashi, K., and Zhou, R. (2009) Ephrin-A5 regulates the formation of the ascending midbrain dopaminergic pathways. **Dev. Neurobiol.** 69 (1) 36-46. 査読有
- ⑦ Sheela Rani, C.S., Elango, N., Wang, S.-S., Kobayashi, K. and Strong, R. (2009) Identification of an activator protein-1-like Sequence as the glucocorticoid response element in the rat tyrosine hydroxylase gene. **Mol. Pharmacol.** 75 (3) 589-598. 査読有
- ⑧ 深堀良二、小林和人 (2009) イムノトキシン細胞標的法を用いた直接路・間接路の機能解析、Brain and Nerve、Vol. 61, No.4, pp. 412-418. 査読無
- ⑨ Wakamatsu, M., Ishii, A., Iwata, S., Sakagami, J., Ukai, Y., Ono, M., Kanbe, D., Muramatsu, S.I., Kobayashi, K., Iwatsubo, T., and Yoshimoto, M. (2008) Selective loss of nigral dopamine neurons induced by overexpression of truncated human α -synuclein in mice. **Neurobiol. Aging** 29 (4) 574-585. 査読有
- ⑩ Kobayashi, T., Kai, N., Kobayashi, K., Fujiwara, T., Akagawa, I., Onda, M., and Kobayashi, K. (2008) Transient silencing of synaptic transmitter release from specific neuronal types by recombinant tetanus toxin light chain fused to antibody variable region. **J. Neurosci. Methods** 175 (1) 125-132. 査読有
- ⑪ 小林和人、深堀良二 (2008) イムノトキシン細胞標的法、実験医学 (増刊号) Vol. 26, No. 12, pp. 195-202. 査読無
- ⑫ 甲斐信行、小林和人 (2008) ドーパミン伝達による行動発現システムの制御、蛋白質核酸酵素 (増刊号：神経の分化、回路形成、機能発現)、Vol. 53, No. 4, pp. 565-572. 査読無
- ⑬ Kobayashi, K. (2007) Controlled cell targeting system to study the brain neural circuitry. **Neurosci. Res.** 58 (2) 118-123. 査読有
- ⑭ Miura, M., Saino-Saito, S., Masuda, M., Kobayashi, K., and Aosaki, T. (2007) Compartment-specific modulation of GABAergic synaptic transmission by μ -opioid receptor in the mouse striatum with green fluorescent protein-expressing dopamine islands. **J. Neurosci.** 27 (36) 9721-9728. 査読有
- ⑮ Kato, S., Inoue, K., Kobayashi, K., Yasoshima, Y., Miyachi, S., Inoue, S., Hanawa, H., Shimada, T., Takada, M., and Kobayashi, K. (2007) Efficient gene transfer via retrograde transport in rodent and primate brains using a human immunodeficiency virus type 1-based vector pseudotyped with rabies virus glycoprotein. **Human Gene Ther.** 18 (11) 1141-1152. 査読有
- [学会発表] (計 9 件)
- ① Kobayashi K, Okada K. Generating animal models for the central nervous system diseases by immunotoxin cell targeting. 2nd International Congress of Antibodies. 2010 March, Beijing.
- ② Fukabori R, Kai N, Kobayashi K, Yasoshima Y, Tsutsui Y, Kobayashi K. Roles of the striatonigral neural pathway in basal ganglia circuitry in two-choice reaction time task. 4th symposium for Molecular and Cellular Cognition Society-Asia, 2009 September, Yokohama.
- ③ Tanaka T, Kai N, Kobayashi K, Hironaka N. Implication of hippocampal dopamine in the conditioning of the rewarding effect of cocaine. 39th Annual Meeting of Society for Neuroscience, 2009 October, Chicago.
- ④ Fukabori R, Kai N, Kobayashi K, Yasoshima Y, Tsutsui Y, Kobayashi K. Behavioral roles of the striatonigral neural pathway in reinforcement learning. 第32回日本神経科学大会、2009年9月、名古屋.
- ⑤ Sano H, Chiken S, Kobayashi K, Nambu A. Motor functions of dopamine D2 receptor-expressing neurons in the striatum. 第32回日本神経科学大会、2009年9月、名古屋.
- ⑥ Kobayashi K. Neural circuit mechanisms underlying dopamine-dependent behaviors. Multidisciplinary approaches to basal

ganglia functions. XXXVI International Congress of Physiological Sciences (IUPS), 2009 July, Kyoto.

- ⑦ Kobayashi K, Kobayashi T, Kai N, Kobayashi K, Fujiwara T, Akagawa K, Onda M, Pastan I. Behavioral and physiological analysis of the striatopallidal neural pathway by conditional transmission silencing. 38th Annual Meeting of Society for Neuroscience, 2008 November, Washington DC.
- ⑧ Kobayashi K, Kai N, Yasoshima Y, and Fukabori R. Conditional ablation of striatal neuronal types containing dopamine D₁ receptors by using immunotoxin cell targeting. Dopamine 50 Years. 2007 May, Gotenborg.

6. 研究組織

(1) 研究代表者 小林 和人

(KOBAYASHI KAZUTO)

福島県立医科大学・医学部・教授

研究者番号：90211903

(2) 研究分担者 小林 憲太

(KOBAYASHI KENTA)

福島県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：70315662

甲斐 信行 (KAI NOBUYUKI)

福島県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：50301750

八十島 安伸 (YASOSHIMA YASUNOBU)

福島県立医科大学・医学部・講師

研究者番号：00273566