

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年5月15日現在

機関番号： 82674

研究種目： 基盤研究 (C)

研究期間： 2009~2011

課題番号： 21500380

研究課題名（和文） 視床線条体入力のシナプス可塑性の制御機構

研究課題名（英文） Cellular mechanisms underlying synaptic plasticity in the thalamostriatal inputs

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・専門副部長

研究者番号： 40291091

研究成果の概要（和文）： 線条体の可塑性は、アセチルコリンとドーパミンのバランスによって決定される。線条体固有のコリナージックインターニューロンは視床線条体入力を受けてアセチルコリンを放出すると考えられている。線条体のミューオピオイド受容体（MOR）陽性のストリオソーム領域では、アセチルコリンによる M1 ムスカリニック受容体を介した PKC の活性化が、MOR の GABA 性入力に対する抑制作用に拮抗した。内在性アセチルコリンの減少は投射ニューロンの脱抑制を促すことで、神経回路の興奮性を上げることを示唆している。

研究成果の概要（英文）： The balance between acetylcholine and dopamine in the striatum conducts the synaptic plasticity in the striatum. Intrinsic striatal cholinergic interneurons receive excitatory thalamostriatal inputs and then change levels of endogenous acetylcholine. In the μ -opioid receptor (MOR)-rich striosomes, activation of PKC via M1 muscarinic receptors attenuated the suppressive effect of MOR on the GABAergic inputs to the projection neurons. These results suggest that reduction of endogenous acetylcholine can increase the excitability of the striatal neural circuits by facilitating the disinhibition of projection neurons.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野： 総合領域

科研費の分科・細目： 神経科学・神経・筋肉生理学

キーワード： 生理学、脳・神経、大脳基底核、姿勢・運動

1. 研究開始当初の背景

運動機能のみならず手続き記憶や強化学習を担う「大脳皮質-基底核ループ」の中で、「視床線条体入力」は「注意」や「決断と行動の修正」といった独特の機能を持つと考えられている。こうした視床線条体入力は、線条体のストリオソーム/マトリックスと呼ば

れるコンパートメント構造と解剖学的に関係が深い。しかし、視床線条体入力と線条体コンパートメント構造との関係は、「大脳皮質-基底核ループ」モデルの中で生理的研究が少ない。大脳基底核の生理機能や疾患の病態解明に、視床線条体入力の機能についてより詳細な知識が求められていた。

2. 研究の目的

これまで申請者等は、ストリオソームの細胞から選択的に電気記録を行う方法を確立して局所神経回路を調べてきた(Miura 2007)。これを発展させ、視床からの入力にストリオソームとマトリックスの間でどのような違いを示すかを、シナプス伝達機能とシナプス可塑性に着目して調べる。それによって、視床線条体入力の生理的および病理的な役割を、ストリオソーム・マトリックスとの関係もいれて考察する。

3. 研究の方法

視床線条体入力の働きを細胞レベル、神経回路レベル調べるために、コンパートメント構造との解剖学的関係に着目した。線条体にはストリオソームとマトリックスといったコンパートメントに分けられる。線条体のコリナージックインターニューロンは、ミューオピオイド受容体 (MOR) 陽性のストリオソームの周囲に多く分布している。そこでアセチルコリンとミューオピオイドの作用を調べていくためにストリオソーム構造を GFP で標識した遺伝子改変マウス (TH-GFP マウス、Matsushita 2002) から脳スライスを作製した。これにより、落射蛍光顕微鏡下にストリオソームとニューロンを同時に視認しながらホールセル電気記録を行った。記録内液は Cs ベースとし biocytin を加えた。細胞外液には興奮性グルタミン酸受容体阻害薬 CNQX と AP5 を加えて GABA 性 IPSC を記録した。

コンパートメント領域とセルタイプ別に視床線条体入力を、ストリオソームとマトリックスの投射ニューロンから正しく行われたことは、電気記録後に biocytin と MOR を免疫組織染色して、共焦点顕微鏡で確かめた (図 1)。

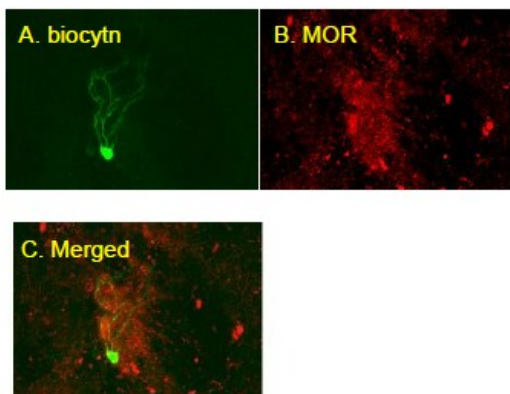


図 1. 投射ニューロン (A) とストリオソーム (B, MOR 染色)。樹状突起が領域内に限局している (C)。

4. 研究成果

(1) 線条体は大脳基底核の入力核であり、大脳皮質と視床から入力を受けとる。こうした皮質線条体入力と視床線条体入力は一様ではなく、ストリオソーム/マトリックス構造と解剖学に特徴的な結合をしている。また線条体の投射ニューロンを含む大部分は GABA 性ニューロンであり、線条体の内部は抑制性のネットワークを形成している。線条体のコンパートメントはこのように興味深い特徴を持つが、生理学的な研究は困難だった。福島県立医大、小林先生との共同研究により、コンパートメントを GFP で識別できるマウス TH-GFP マウスを用いて、部位選択的に電気記録する方法を確立した。TH-GFP マウスは、チロシン水酸化酵素のプロモータ制御下に GFP を発現させている。そのため黒質ドーパミンニューロンの軸索が、落射蛍光顕微鏡下に GFP の蛍光が確認できる。またストリオソームは発生学的に、マトリックスより早く完成してくるのでドーパミン投射も早くに発達するので、生後しばらくはストリオソームにだけ GFP の蛍光がみられる。

(2) ミューオピオイド受容体作動薬 DAMGO 1 μM によりストリオソームの投射ニューロンでは、GABA 性 IPSC が可逆的に抑制された。ストリオソームでの IPSC の抑制率は約 20% で、D1、D2 ドーパミン受容体阻害薬は無効だった。またミューオピオイド受容体の特異的拮抗薬 CTOP により DAMGO の作用はブロックされたので、DAMGO の作用は確かにミューオピオイド受容体を介したものである。DAMGO の作用はマトリックスでは見られなかった。(図 2)。

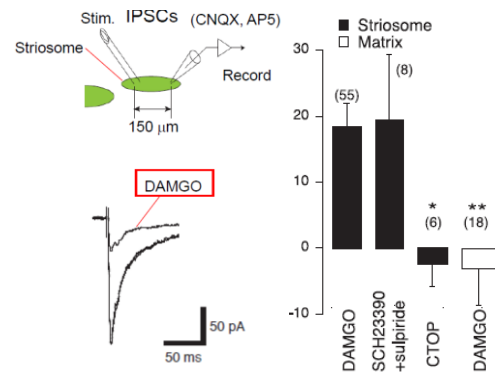


図 2. (左) ストリオソーム内を刺激して投射ニューロンから IPSC を記録した。ミューオピオイド受容体作動薬 DAMGO 1 μM により IPSC の振幅が減少した。(右) DAMGO による IPSC の抑制率。カッコ内の数字は例数。(Miura 2007 より改変)

(3) DAMGO によるミューオピオイド受容体の活性化はアデニレートサイクレスから PKA にいたるシグナル伝達経路を使って K チャネルに作用して、シナプス前性に GABA 放出を抑制していた (Miura 2007)。ところがこれとは別経路の PKC を阻害すると DAMGO の効果が促進された。逆に、ホルボルエステル (PDBu) によって PKC を活性化すると、DAMGO の効果がみえなくなった (図 3)。ミューオピオイド受容体の作用は PKC の活性化によって拮抗された。

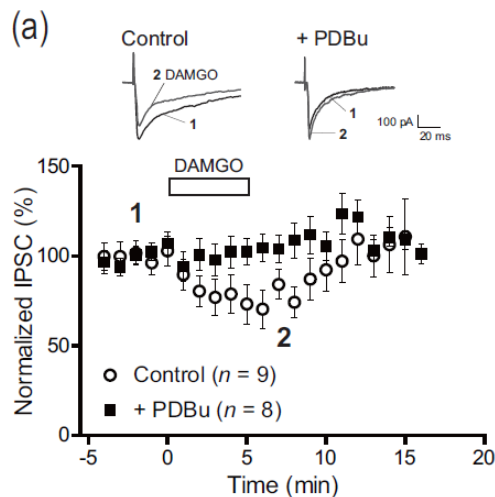


図 3. (上) ストリオソーム内の投射ニューロンから IPSC を記録した。ホルボルエステル (PDBu) 存在化には、ミューオピオイド受容体作動薬 DAMGO による抑制が見られない。(下) 時間経過を示す (Inoue 2012 より改変)

(4) PKC を活性化する経路は、一般にはミューオピオイド受容体からではなく、Gq/G11 タイプの G タンパク質とカップルした代謝型受容体の活性化からである。

線条体の投射ニューロンには Gq カップルの M1 ムスカリニック受容体が豊富に発現している。そのため M1 受容体を阻害すれば、PKC 抑制と同じ効果があり DAMGO の作用を増強する可能性がある。実際に、ムスカリニック受容体のブロードな阻害薬 atropine 1 μM と M1 受容体阻害薬 pirenzepine 1 μM は DAMGO の効果を増強した (図 4 左)。しかも pirenzepine 存在かでは、DAMGO の IPSC 抑制効果が遷延した (図 4 右)。一方、M2, 3, 4 阻害薬の AF-DX-384 と 4-DAMP は無効だった。

(5) オピオイドは μ オピオイド受容体を介して抑制性 GABA 性シナプス伝達をストリオソームだけで減弱した。さらに、内在性のアセチルコリンは M1 ムスカリニック受容体を介してオピオイドの作用に拮抗していた。

内在性アセチルコリンが増加すればオピオイドの作用を妨げ、GABA 性投射が減弱しな

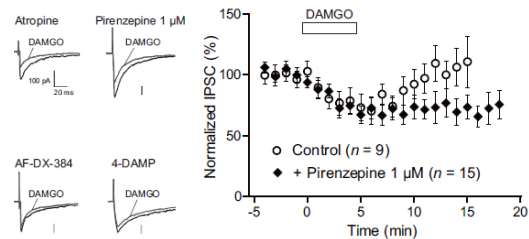


図 4. (左) ストリオソーム内の投射ニューロンから IPSC を記録した。ムスカリニック受容体阻害薬存在化に、ミューオピオイド受容体作動薬 DAMGO を投与した。(右) Pirenzepine 存在かでの DAMGO の効果の時間経過を示す (Inoue 2012 より改変)

いので回路の抑制の程度は変わらない。逆に、アセチルコリンが減れば、オピオイドの作用が強まり、GABA 性投射がより減弱するので、抑制が弱まる。つまり、投射ニューロンを含む線条体の神経回路は脱抑制し、結果的に神経回路の興奮性を増すことになるだろう。

アセチルコリンの減少と投射ニューロンの脱分極はシナプス可塑性を促進することが知られている。コリン作動性インターニューロンは、投射ニューロンとともに、視床線条体入力を受けているので内在性アセチルコリンの放出にも影響を受ける。視床線条体入力の強さやタイミングにより、コンパートメント間で異なる可塑性が起こることが示唆される。

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)

- ① Ose, Y, Miura, M, Inoue, R, Andou, N, Aosaki, T and Nishimura, K: Imbalanced suppression of excitatory and inhibitory synaptic transmission onto mouse striatal projection neurons during induction of anesthesia with sevoflurane in vitro. *Eur J Neurosci*, 査読有, 35: 1396-1405, 2012, doi:10.1111/j.1460-9568.2012.08065.x
- ② Inoue R, Aosaki T and Miura M: Protein kinase C activity alters the effect of μ -opioid receptors on inhibitory postsynaptic current in the striosomes. *Neuroreport*, 査読有, 23:184-188, 2012
- ③ Masuda M, Miura M, Inoue R, Imanishi M, Saino-Saito S, Takada M, Kobayashi K,

Aosaki T: Postnatal development of tyrosine hydroxylase mRNA-expressing neurons in mouse neostriatum. *Eur J Neurosci*, 査読有, 34:1355-1367, 2011 doi: 10.1111/j.1460-9568.2011.07873.

- ④ Ageta H, Ikegami S, Miura M, Masuda M, Migishima R, Hino T, Takashima N, Murayama A, Sugino H, Setou M, Kida S, Yokoyama M, Hasegawa Y, Tsuchida K, Aosaki T, Inokuchi K: Activin plays a key role in the maintenance of long-term memory and late-LTP. *Learn Mem*, 査読有, 17:176-185, 2010
- ⑤ Aosaki, T., Miura, M., Suzuki, T., Nishimura, K. and Masuda, M. Acetylcholine-dopamine balance hypothesis in the striatum: an update. *Geriatr Gerontol Int*, 査読有, 10 Suppl 1:S148-157, 2010
- ⑥ Tomida S, Mamiya T, Sakamaki H, Miura M, Aosaki T, Masuda M, Niwa M, Kameyama T, Kobayashi J, Iwaki Y, Imai S, Ishikawa A, Abe K, Yoshimura T, Nabeshima T. and Ebihara S: Usp46 is a quantitative trait gene regulating mouse immobile behavior in the tail suspension and forced swimming tests. *Nat Genet*, 査読有, 41: 688-695, 2009
- ⑦ Sato T, Miura M, Yamada M, Yoshida T, Wood J D, Yazawa I, Masuda M, Suzuki T, Shin R M, Yau H J, Liu F C, Shimohata T, Onodera O, Ross C A, Katsuki M, Takahashi H, Kano M, Aosaki T and Tsuji S: Severe neurological phenotypes of Q129 DRPLA transgenic mice serendipitously created by en masse expansion of CAG repeats in Q76 DRPLA mice. *Hum Mol Genet*, 査読有, 18: 723-736, 2009
- ⑧ 三浦正巳, 増田正雄, 青崎敏彦: 中枢神経系におけるドーパミン受容体のはたらき. *生体の科学*, 査読無, 60 (5): 412-413, 2009

[学会発表] (計 6 件)

- ① 井上律子、マウス線条体における μ オピオイド受容体の効果に内在性アセチルコリンが及ぼす影響 Endogenous acetylcholine attenuates the μ -opioid receptor-induced suppression

of GABAergic IPSC in mouse striatum、第 34 回日本基礎老化学会大会 東京 2011 年 6 月 15 日~17 日

- ② 三浦正巳、線条体チロシン水酸化酵素 mRNA 陽性細胞の分類と生後発達、JBAGS 第 26 回日本大脳基底核研究会 2011 年 7 月 2 日、3 日 神奈川県・箱根町・パレスホテル箱根
- ③ 井上律子、 μ オピオイド受容体作動薬と内在性アセチルコリンがマウス線条体の GABA 作動性抑制電流に与える影響 Opposite effects of the μ -opioid receptor agonist DAMGO and endogenous acetylcholine on GABAergic IPSC in mouse striatum、Neuro2011、第 34 回日本神経科学大会 横浜 2011 年 9 月 14 日
- ④ Inoue R, Suppressive effect on GABAergic IPSC via μ -opioid receptor is modulated by endogenous acetylcholine in the mouse striatum, The Society for Neuroscience 41st Annual Meeting, Washington, D.C., USA, November 12-16, 2011.
- ⑤ Inoue R, Modulation of GABAergic inhibitory postsynaptic current via μ -opioid receptors and muscarinic acetylcholine receptors in striosomes of the mouse striatum, The 2nd Japan-Korea International Joint Meeting, Seoul, The Republic of Korea, November 29- December 1, 2011.
- ⑥ 三浦正巳、ニコチン受容体の脱感作は線条体コリン作動性ニューロンへの GABA 入力を調節する 第 89 回日本生理学会大会 松本 2012 年 3 月 29 日

[その他]

ホームページ等

http://www.tmgig.jp/J_TMIG/j_research/DA42.html

6. 研究組織

(1) 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・専門副部長

研究者番号: 40291091