

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 2 日現在

機関番号：32651

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24500464

研究課題名(和文)細胞膜表面および細胞内機能分子による線条体シナプス伝達修飾機構の解析

研究課題名(英文) Modulation of striatal synaptic transmission by cell surface and intracellular functional molecules

研究代表者

初山 俊彦 (Momiya, Toshihiko)

東京慈恵会医科大学・医学部・教授

研究者番号：20230055

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：中枢シナプス伝達は様々な細胞膜表面および細胞内機能分子により制御されている。申請者はこれまでにシナプス前ドーパミン受容体による大脳基底核シナプス伝達修飾作用の解析を行ってきたが、本研究課題ではそれを発展させて、1)海馬における細胞内ムスカリン受容体M1サブタイプによる長期増強の制御、2)線条体において生理的に遊離されたドーパミンによるシナプス伝達およびニューロン活動の制御、3)前脳基底核シナプス伝達におけるセロトニン受容体5-HT1Bサブタイプを介するシナプス前抑制作用、について新たな知見を得た。転写制御因子による線条体シナプス伝達についても実験を継続中である。

研究成果の概要(英文)：Central synaptic transmission is regulated by various molecules on the surface of cell membranes as well as in the cytosoles. In the present grant project, I have clarified 1) modulatory roles of intracellular muscarinic receptor M1 subtype in the regulation of long term potentiation in the hippocampal excitatory synaptic transmission, 2) functions of physiologically released dopamine in the inhibitory synapse and neuronal activities in the striatum, 3) presynaptic inhibition of inhibitory synaptic transmission in the basal forebrain by serotonin 5-HT1B receptors. I'm also analyzing the functions of intracellular transcription factors in the excitatory and inhibitory transmission in the striatum.

研究分野：神経生理学

キーワード：ドーパミン ムスカリン セロトニン 線条体 海馬 前脳基底核 パッチクランプ シナプス伝達

1. 研究開始当初の背景

線条体は脳基底核最大の中継核であり、大脳皮質からの入力是最初に線条体によって処理される。また、線条体ニューロンの活動および線条体ニューロンへのシナプス伝達は、中脳の黒質緻密部のドーパミン性ニューロンを起始とするドーパミン性入力により修飾されている。これまでの臨床医学的研究により、黒質-線条体ドーパミン系は随意運動調節に関与すること、この系の障害とパーキンソン病等の脳基底核関連疾患とが関係していることが示唆されている。線条体を構成するニューロンの95%は medium spiny neuron と呼ばれる GABA 性投射ニューロンであり、他は少数の介在ニューロンである。介在ニューロンの内、アセチルコリン性介在ニューロンは、少数でありながら脳基底核のアセチルコリン供給源としての機能を有し、ドーパミンとともに運動調節を行なっていることが示唆されている。

申請者はこれまでにスライスパッチクランプ法を用いて、ラット線条体アセチルコリン性介在ニューロンから記録した GABA 性抑制性シナプス後電流が、シナプス前ドーパミン D2 型受容体を介して抑制されること、そしてその抑制機構は、シナプス前終末の N 型カルシウムチャンネルを選択的に遮断することによるカルシウム流入阻害である、ということを見出した(Momiyama & Koga, J Physiol, 2001)。さらに、この線条体シナプス伝達においては、N 型チャンネルの関与は生後発達とともに減少し、それに伴ってシナプス前 D2 型受容体を介する抑制も減弱することを明らかにした(Momiyama, J Physiol, 2003)。しかしながら、線条体シナプス伝達における生理的ドーパミンおよびドーパミン受容体の機能は不明である。また、線条体および関連脳部位である海馬、前脳基底核のシナプス伝達における、細胞内機能分子の機能は不明である。

2. 研究の目的

以上の背景から本研究課題では、線条体、海馬、前脳基底核におけるシナプス伝達に対する細胞膜表面分子および細胞内分子の修飾作用を明らかにすることを目的として、電気生理学および行動学的解析を行なった。細胞膜表面分子としては、ドーパミン受容体とセロトニン受容体焦点を当て、細胞内分子としては細胞内ムスカリン受容体 M1 サブタイプおよび核内転写制御因子系に着目し、各々野生型マウスとともに遺伝子改変マウスを利用した解析を行なった。

3. 研究の方法

I) 電気生理学的解析

マウスを断頭し、マイクロスライサーを用いて線条体、海馬、あるいは前脳基底核を含

む厚さ 300 μm のスライス標本を作成する。目的のニューロンからパッチクランプ用増幅器によりホールセル記録を行ない、ニューロン近傍に電気刺激を与えることによりシナプス後電流を誘発する。海馬の長期増強誘発のためには頻回刺激を与える。活動電位を誘発させるためには、記録電極を通じて脱分極性パルス電流を与える。

II) 行動学的解析

- i) 5 日間連続した自発性行動 spontaneous motor activity の解析
- ii) rota-rod task を用いた motor performance の解析
- iii) Step-Wheel task を用いた motor ability の解析

4. 研究成果

1) 線条体において生理的に遊離されたドーパミンの機能

線条体のアセチルコリン性ニューロンから記録される GABA 性抑制性シナプス電流は、ドーパミン D2 受容体ノックアウトマウスでは野生型マウスとは異なる修飾特性を示し、また、関与するカルシウムチャンネルサブタイプの割合が有意に異なっていた。さらに、これらのパラメーターの生後発達変化過程も、ノックアウトマウスと野生型マウスの間に有意な差異が認められた。このことから、線条体シナプス伝達における生理的ドーパミンおよびドーパミン受容体の修飾機能が示唆された(Sato et al., 2014; Yamada et al., 2016)。

また、行動学的解析の結果、2 種のドーパミン受容体ノックアウトマウスおよび野生型マウスが、上記 3 種類の行動学的パラメーター解析において、各々異なる異常、特性を示した。このことから 2 種のドーパミン受容体の脳基底各機能における差異が示唆された(Nakamura et al., 2014)。

2) 前脳基底核アセチルコリン性ニューロンへの GABA 遊離に対するセロトニン 5-HT_{1B} 受容体を介するシナプス前抑制

認知、覚醒およびその病的状態としてアルツハイマー病との関連が示唆される前脳基底核のアセチルコリン性ニューロンから GABA 性抑制性シナプス電流 (IPSCs) を記録し、セロトニンによる修飾作用を解析した。その結果、セロトニンは、GABA 性シナプス終末に存在するセロトニン受容体 5HT_{1B} サブタイプを介してシナプス前性にアセチルコリン性ニューロンへの GABA 遊離を抑制すること、そしてこの抑制はシナプス前終末へのカルシウムイオン流入には依存せずに、カリウムチャンネル修飾により生じることを見出した(Nishijo & Momiyama, 2016)。

3) 細胞内ムスカリン受容体 M1 サブタイプを介する海馬シナプス長期増強の修飾

ムスカリン性アセチルコリン受容体の内で、M1 サブタイプは海馬および前脳基底核においては、細胞膜表面のみならず、細胞内にも分布していることを見出し、この細胞内 M1 受容体活性化によって、海馬 CA1 領域の錐体ニューロンから記録される興奮性シナプス伝達の長期増強が、さらに有意に増強されることを見出した(Anisuzzaman et al., 2013)。

4) **転写制御因子による線条体シナプス伝達修飾**

線条体関連の病態モデルの 1 つとして、てんかん発作を特徴とする転写制御因子 ARX 変異導入マウスの線条体シナプス伝達解析を行なった。興奮性シナプス伝達においては、AMPA 受容体と NMDA 受容体との寄与の割合が野生型と有意に異なることを見出し、抑制性シナプス伝達では、ドーパミン受容体を介する修飾に有意な差異が認められた(論文投稿準備中)。

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 6 件)

Nishijo T & Momiyama T, Serotonin 5-HT_{1B} receptor-mediated calcium influx-independent presynaptic inhibition of GABA release onto rat basal forebrain cholinergic neurons. *European Journal of Neuroscience*. doi: 10.1111/ejn.13273. [Epub ahead of print], 2016 (査読有)

Yamada K, Takahashi S, Karube F, Fujiyama F, Kobayashi K, Nishi A & Momiyama T, Neuronal circuits and physiological roles of the basal ganglia in terms of transmitters, receptors and related disorders. *Journal of Physiological Sciences* DOI: 10.1007/s12576-016-0445-4 [Epub ahead of print], 2016 (査読有)

Sato A, Sasaoka T, Nishijo T & Momiyama T, GABAergic synaptic transmission onto striatal cholinergic interneurons in dopamine D2 receptor knock-out mice. *Neuroscience* 263:138-47. doi: 10.1016/j.neuroscience.2014.01.010. (査読有)

Nakamura T, Sato A, Kitsukawa T, Momiyama T, Yamamori T & Sasaoka T, Distinct motor impairments of dopamine D1 and D2 receptor knockout mice revealed by three types of motor behavior. *Frontiers in Integrative Neuroscience* 8:56. doi: 10.3389/fnint.2014.00056. eCollection 2014. (査読有)

Anisuzzaman AS, Uwada J, Masuoka T, Yoshiki H, Nishio M, Ikegaya Y, Takahashi N, Matsuki N, Fujibayashi Y, Yonekura Y, Momiyama T & Muramatsu I, Novel contribution of cell surface and intracellular M1-muscarinic acetylcholine receptors to synaptic plasticity in hippocampus. *Journal of Neurochemistry* 126(3):360-71. doi: 10.1111/jnc.12306, 2013. (査読有)

Nishi H, Arai H & Momiyama T, NCI-H295R, a human adrenal cortex-derived cell line, expresses purinergic receptors linked to Ca²⁺-mobilization/influx and cortisol secretion. *PLoS One*. 2013 8(8):e71022. doi: 10.1371/journal.pone.0071022. eCollection 2013. (査読有)

[学会発表](計 6 件)

鈴木江津子、初山俊彦、線条体アセチルコリン性ニューロンへの GABA 性シナプス伝達に対するムスカリン受容体を介する抑制。第 93 回日本生理学会大会 [札幌, 2016 年 3 月 22 日]

西條琢真、初山俊彦、カリウムチャネルを介したセロトニンによるラット前脳基底核アセチルコリン性ニューロンへの GABA 遊離の抑制。第 89 回日本薬理学会年会 [横浜, 2016 年 3 月 11 日]。

Nishijo T, Momiyama T, P/Q-type calcium channels are involved in serotonin-induced inhibition of non-NMDA glutamatergic transmission in the rat basal forebrain cholinergic neurons. 第 38 回日本神経科学大会 [神戸, 2015 年 7 月 28 日]。

初山俊彦、線条体シナプス伝達におけるドーパミンおよびドーパミン受容体の生理的機能。第 120 回日本解剖学会総会・全国学術集会 第 92 回日本生理学会大会 合同大会シンポジウム [神戸, 2015 年 3 月 23 日]

Nishijo T, Momiyama T, Serotonin-induced inhibition of excitatory transmission onto cholinergic neurons in the rat basal forebrain. 9th FENS Forum of European Neuroscience [Milan, 2014 年 7 月 8 日]。

Momiyama T, Nishijo T, Serotonin-induced presynaptic inhibition of GABAergic transmission onto cholinergic neurons in the rat basal forebrain. IUPS 2013 [Birmingham, 2013 年 7 月 22 日]

[図書](計 6 件)

初山俊彦 「オピオイド類」「薬物乱用」

「中枢神経興奮薬」リップンコット シリーズ イラストレイテッド薬理学 第6版 第14, 15, 16章 丸善、東京 (2016 印刷中). (査読無)

朮山俊彦 「シナプス伝達の調節：セカンドメッセンジャー」 カンデル神経科学 第5版 第11章、メディカル・サイエンス・インターナショナル、東京 (2014) (査読無)

朮山俊彦 「神経伝達物質と神経修飾物質」ギャノン生理学 原書24版 第7章、丸善、東京 (2014) (査読無)

朮山俊彦 「神経伝達および中枢神経系」グッドマン・ギルマン薬理書 第12版 第14章 廣川書店、東京 (2013). (査読無)

石川太郎、朮山俊彦 (2012). 「遅いシナプス後電位」. 脳科学辞典 (Online Dictionary). 理化学研究所 脳科学総合研究センター編集 (編集委員長：田中啓治、御子柴克彦) DOI : 10.14931/bsd.2434 (査読有)

朮山俊彦 「中枢神経興奮薬」リップンコット シリーズ イラストレイテッド薬理学 第5版 第10章 丸善、東京 (2012). (査読無)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等
なし

6. 研究組織
(1) 研究代表者

朮山俊彦 (MOMIYAMA TOSHIHIKO)
東京慈恵会医科大学・医学部・教授
研究者番号：20230055

(2) 研究分担者 なし
()

研究者番号：

(3) 連携研究者 なし
()

研究者番号：