

令和元年6月17日現在

機関番号：82674

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K21695

研究課題名(和文)常同行動の神経基盤-線条体局所神経回路の生理的役割

研究課題名(英文)Neural basis of stereotyped behavior: Physiological role of striatal local neural circuits

研究代表者

井上 律子(Inoue, Ritsuko)

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・研究員

研究者番号：20583826

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：背側線条体はストリオソームとマトリックスという二つの機能領域(線条体コンパートメント)に分けられる。ストリオソームは、ドーパミン受容体反復刺激により誘発される常同行動との関連が示唆されてきた。常同行動が起こる時、線条体コンパートメント間の活動バランスが崩れていると考えられる。本研究では、常同行動モデルにおいて、線条体投射ニューロンの興奮性がストリオソームとマトリックスで逆方向にシフトすることを明らかにした。この結果は、線条体コンパートメント間の活動バランスの異常を補正することで、増悪した常同行動が改善される可能性を示唆している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

神経変性疾患や薬の副作用による行動異常において、線条体コンパートメント間の活動バランスが崩れていると予想されている。ストリオソームとマトリックスのどちらが優位かによって病態が異なることが知られており、ストリオソームは無意味な繰り返し行動である「常同行動」や強迫性障害に関係することが示されてきた。しかし、ストリオソームは細胞レベルの生理学的研究に乏しく、その生理的機序はこれまで明らかではなかった。本研究の成果から、背側線条体の局所神経回路、特にストリオソーム回路の生理的・病態生理的意義の検討がなされ、行動異常における線条体の役割の解明、疾患の軽減や治療につながることを期待できる。

研究成果の概要(英文)：The striatum consists of two functional subdivisions: striosome and matrix compartments. The striosomes have been suggested to be involved in stereotyped behavior that occurs following by repeated stimulation of dopamine receptors. When stereotyped behavior occurs, it has been proposed that the neural activity balance between the striatal compartments is disrupted. In this study, we found that the excitability of striatal projection neurons shifted in opposite directions in the striosomes and the matrix in a stereotypy model mouse. These results suggest that correction of the abnormal activity balance between the striatal compartments may improve exacerbated stereotyped behavior.

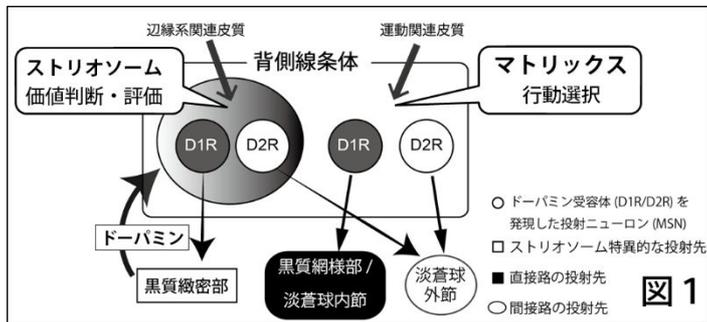
研究分野：神経生理学

キーワード：ドーパミン 常同行動 パッチクランプ 大脳基底核 線条体

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

脳内で豊富なドーパミン投射を受ける背側線条体は、ストリオソームとマトリックスという解剖学的、神経化学的に大きく異なる線条体コンパートメントから構成される (Gerfen, 1992)。ストリオソームは線条体の 15%以下を占めるに過ぎないが、強化学習に重要なドーパミンニューロンと相互に連絡し合う解剖学的な特徴から、価値判断や評価に深く関わる機能領域であると考えられている (図 1)。



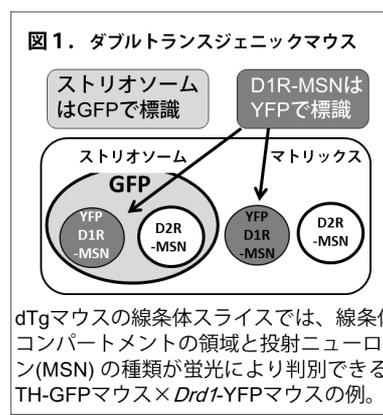
ストリオソームは、ドーパミン受容体反復刺激により誘発される常同行動との関連が示唆されてきた。常同行動は同じ動作を無意味に繰り返す行動異常で、強迫性障害 (OCD) やトゥレット症候群、薬物依存でみられる。ドーパミン補充療法中のパーキンソン病や前頭側頭型認知症の周辺症状として出現することも知られている。ドーパミン受容体単回刺激でも常同行動は出現するが、反復刺激された動物では常同行動が増悪する。常同行動が増悪すると、ストリオソームに *c-fos* などの最初期遺伝子 (IEGs) が選択的に発現し、マトリックスでは逆に発現が抑制される。さらにストリオソームの IEGs 発現と常同行動の度合は正比例することが知られている (Canales & Graybiel, 2000)。行動学習の動機づけに関わるとされてきたストリオソームが、常同行動における重要な中継点だと考えられる根拠のひとつである。しかし、ストリオソームは細胞生理学的研究に乏しく、その生理的機序は分かっていない。

2. 研究の目的

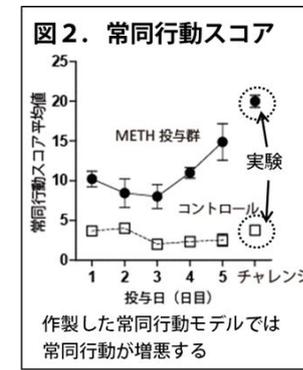
線条体コンパートメント間の興奮性の変化が行動異常の神経基盤にあると考えられるが、その生理的機序は分かっていない。ドーパミン受容体反復刺激により誘発される常同行動の出現と増悪は、ストリオソームとの関連が示唆されてきた。線条体コンパートメントさらに回路別に電気生理学的解析を行い、常同行動の病態を理解する上で重要な、どのタイプのニューロンがどのように活動を变化しているのかを調べる。常同行動における線条体局所神経回路の生理的意義を検討する。

3. 研究の方法

(1) 線条体コンパートメントが見分けられ、かつ直接路または間接路ニューロン (D1R-MSN または D2R-MSN) が選別できるダブルトランスジェニック (dTg) マウスを交配により作成した。TH-GFP マウス (Matsushita et al, 2002) はストリオソームの領域が GFP で (Miura et al, 2007)、*Drd1*-YFP/*Drd2*-YFP マウスではドーパミン D1/D2 受容体を発現した細胞体が YFP で標識される (図 1)。



(2) 得られたダブルトランスジェニックマウスにメタンフェタミン (METH) 5 mg/kg を 1 日 2 回、5 日間連続投与してドーパミン受容体を反復刺激し、2 - 3 日間の休薬後、同じ薬を 1 回投与する (チャレンジ)。これを常同行動モデルマウスとした。コントロールは、生理食塩水を同様に投与した。ドーパミン作動薬をげっ歯類に投与すると、頭を振る、におい嗅ぎなどを無意味に繰り返し、常同行動の度合がスコアとして評価できる (Kelley, 2001)。作製した常同行動モデルでは常同行動スコアが日を追うごとに増悪し、チャレンジの時点でも常同行動スコアが下がることは無いことを確認した (図 2)。常同行動モデルにおいて *c-fos* 発現量がピークになるチャレンジ 1 時間後に、常同行動モデルまたはコントロールのマウスから皮質線条体スライスを作成した。



(3) 2 種類のダブルトランスジェニックマウスを常同行動モデルに使用することで、ストリオソームとマトリックスに加え、ドーパミン D1 受容体を持つ直接路ニューロンと D2 受容体を持つ間接路ニューロンが区別できる。作成した皮質線条体スライスを落射蛍光顕微鏡下に置き、線条体コンパートメントの蛍光と直接路または間接路ニューロンを標識した蛍光を目視して、パッチクランプ記録する細胞を決めた。常同行動の出現と増悪に関わると思われる投射ニューロンの興奮性の変化などを調べた。最終的に 4 種類の線条体投射ニューロンの違いを検索した。

電気生理記録後に、ストリオソームのマーカーである  $\mu$  オピオイド受容体で免疫抗体染色を行い、記録した細胞の位置を再確認した。

#### 4. 研究成果

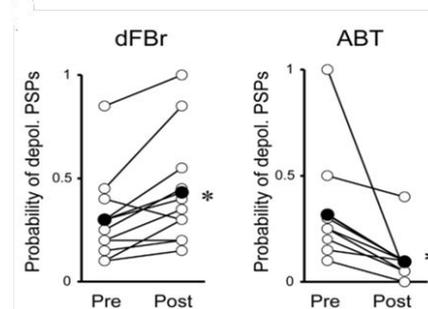
(1) 常同行動モデルの直接路および間接路ニューロンからの電気生理記録により、興奮性の違いを明らかにした。常同行動モデルのストリオソームとマトリックスでは、ドーパミン受容体反復刺激に対する直接路ニューロンの応答が異なっていた。一方、間接路ニューロンでは違いはみられなかった。同種の投射ニューロンにもかかわらず、発火頻度の増減が線条体コンパートメント間で逆方向にシフトしていた。発火頻度が異なる原因を調べるため、膜の特性を検証した。注入電流に対する膜電位を阻害剤(TTX, Cd<sup>2+</sup>) 有り無しの条件で計測した。阻害剤存在下の発火しない条件では、ストリオソームの膜電位の変化量が増加していた。発火する条件下では、線条体ニューロンの特徴である膜の整流性がマトリックスにおいて低下していた。発火しにくい一因であると考えられる。最後に、興奮性の違いに関する電流成分の検討も行った。投稿前のため詳細は伏せるが、興奮性の違いに関与する電流成分が K 電流であり、常同行動モデルの線条体コンパートメント間で逆方向に修飾されていることを見出した。

(2) 常同行動モデルの直接路および間接路ニューロンからの電気生理記録により、シナプス伝達の違いを検証した。興奮性微小シナプス後電流 mEPSC (miniature excitatory postsynaptic current) と抑制性微小シナプス後電流 mIPSC (miniature inhibitory postsynaptic current) それぞれを計測したが、振幅、頻度ともに差はみられなかった。一方、ドーパミンを線条体スライスに急性投与すると、GABA 作動性入力である mIPSC に与える効果が増大していた。コントロールのマトリックス直接路ではドーパミン急性投与により振幅が小さくなるが、常同行動モデルではこの振幅の抑制が消失していた。シナプス後に対するドーパミンの効果が増大したと推測される。

(3) 線条体コンパートメント間の活動バランスを補正することで、増悪した常同行動が改善する可能性が示唆された。これまでの結果から、常同行動モデルでは相対的にストリオソームの出力が上がっていると考えられる。常同行動時にストリオソーム優位な状態であることは、ヒトの病態と照らし合わせても知られている。またストリオソームではコリン作動性ニューロンに対するニコチン受容体の作用が弱く、線条体コンパートメント特異的な差がある (Inoue et al., *Neuropharmacology*, 2016; 右図)。そこで、ニコチン受容体関連薬を用いた時、常同行動スコアが変化するか検討した。

常同行動モデル作成のための METH 投与前にニコチン受容体作動薬または Positive allosteric modulator (PAM) を投与し、METH 投与後に常同行動スコアを採点した。休薬後のチャレンジでは、METH 投与のみを行った。ニコチン受容体作動薬は ABT-418 (0.5 mg/kg)、PAM は desformylflustrabromine (dFBr) を用いた。コントロールは、生理食塩水を前投与した常同行動モデルマウスとした。ABT-418 前投与群では、常同行動スコアがコントロールより低い傾向を示した。一方、dFBr 2.5 mg/kg 前投与群は METH 反復投与期間にコントロールより有意に高い常同行動スコアを示していたが、dFBr 5.0 mg/kg 前投与群においてこの現象は観察されなかった。dFBr は PAM であるため、行動に対する効果が濃度により異なるという報告がある。本研究においても dFBr 濃度の違いが影響したと考えている。これらの結果から、薬物誘発性の常同行動がニコチン受容体作動薬の併用により軽減される可能性を示した。

ニコチン受容体関連薬は線条体ニューロンへの抑制を変化させる



#### < 引用文献 >

- Gerfen CR. *Trends Neurosci.* 1992 Apr;15(4):133-9.
- Canales JJ, Graybiel AM. *Ann Neurol.* 2000 Apr; 47(4 Suppl 1): S53-9.
- Matsushita N et al., *J Neurochem.* 2002 Jul;82(2):295-304.
- Miura M et al., *J Neurosci.* 2007 Sep 5;27(36):9721-8.
- Kelley AE. *Curr Protoc Neurosci.* 2001 May; Chapter 8: Unit 8.8.

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 1件)

Inoue R, Suzuki T, Nishimura K, Miura M. Nicotinic acetylcholine receptor-mediated GABAergic inputs to cholinergic interneurons in the striosomes and the matrix compartments of the mouse striatum. *Neuropharmacology*, 査読有, 105:318-328, 2016. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2016.01.029

[学会発表](計 8件)

Ritsuko Inoue, Mayumi Takahashi, Masami Miura. Exogenous coenzyme Q treatment affects age-related alterations of the motor cortex in aged mice. Neuroscience 2018, Nov 3-7th 2018, San Diego (U. S. A.)

Ritsuko Inoue, Mayumi Takahashi, Masami Miura. Exogenous coenzyme Q treatment improves fEPSPs in the motor cortex of aged mice. 11th FENS Forum, July 7-11th 2018, Berlin (Germany)

井上律子、中内さくら、高橋真由美、三浦正巳 A neurophysiological study of age-related motor impairment. 第41回日本基礎老化学会大会、2018年5月31日-6月2日、東京理科大学葛飾キャンパス 図書館ホール(東京・葛飾区)

Inoue R, Miura M. Nicotinic and opioidergic modulation on inhibitory inputs to cholinergic interneurons in the striosomes and the matrix of the mouse striatum. Dopamine 2016, September 5-8th 2016, Vienna (Austria)

井上律子、鈴木健雄、西村欣也、三浦正巳 Nicotinic acetylcholine receptor-mediated GABAergic inputs are more prominent in the matrix cholinergic neurons than in the striosomes of mouse striatum. 第39回日本神経科学大会、2016年7月20-22日、パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)

Miura M, Inoue R. An allosteric modulator of  $\alpha 4 \beta 2$  nicotinic acetylcholine receptor potentiates GABAergic inputs to cholinergic interneurons in the mouse striatum. 第30回国際神経精神薬理学会(CINP)、2016年7月3-5日、COEX(韓国・ソウル)

井上律子、三浦正巳 Differences of electrophysiological property between compartments of the mouse striatum in the methamphetamine-induced stereotypy. 第46回日本神経精神薬理学会年会、2016年7月2-3日、COEX(韓国・ソウル)

井上律子、三浦正巳 ドーパミン受容体刺激による常同行動の神経基盤 第39回日本基礎老化学会大会、2016年5月27-28日、伊勢原市民文化会館(神奈川県・伊勢原)

〔図書〕(計 0件)

〔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：  
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：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

### (2) 研究協力者

研究協力者氏名：三浦 正巳

ローマ字氏名：(MIURA, masami)

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。