

平成 21 年 5 月 13 日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2006～2008

課題番号：18500316

研究課題名（和文）視床投射細胞への興奮とフィードフォワード抑制の活動依存的調節機構

研究課題名（英文）Activity dependent modulation of corticothalamic synapses onto relay and reticular neurons

研究代表者

宮田 麻理子（MIYATA MARIKO）

東京女子医科大学・医学部・教授

研究者番号：70281631

研究成果の概要：皮質視床シナプスは視床投射細胞に興奮性シナプスを形成すると同時に、その側枝は、抑制性細胞である網様体細胞にシナプスを形成し、網様体細胞から視床投射細胞に抑制性シナプスを作ることで、皮質視床シナプスは視床に対し feed forward inhibition も与える。我々は、皮質視床シナプスのこれら二つの細胞へのシナプス伝達においてカイニン酸受容体がシナプス前性にそれぞれ相反した作用を持つことを明らかにし、皮質投射細胞へのシナプス伝達には GluR5 が関与していることも明らかになった。さらに、ニコチン受容体も皮質視床シナプスの伝達に寄与していることが明らかになった。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2008 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

2006 年度採択、出産のため 2007 年度まで留保申請

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：視床 皮質視床シナプス 視床網様体細胞 カイニン酸受容体

研究開始当初の背景

皮質視床シナプスは視床投射細胞に興奮性シナプスを形成すると同時に、その側枝は、抑制性細胞である網様体細胞にシナプスを形成し、網様体細胞から視床投射細胞に抑制性シナプスを作ることで、皮質視床シナプスは視床に対し feed forward inhibition を与える。皮質視床シナプスの興奮性 抑制性入力精巧なバランス調節が、意識や感覚情報処理に重要と考えられているが、その調節機構を担う分子は、シナプスレベルで殆ど明らかにな

っていない。(図1)

カイニン酸受容体は脳の多くの部位で発現し、シナプス前、後部でシナプス伝達の修飾因子として働いていることがよく知られている。サブタイプには GluR5,6,7, KA1,2, が存在する。体性感覚を司る視床 VPL 核に皮質視床シナプスとして投射する、体性感覚野皮質第6層の錐体細胞にはこれらのカイニン酸受容体の mRNA が多量に発現しており、かつこれらは発達を終えても発現しつづける。我々は、皮質視床シナプスのシナプス前にカイニン酸受容体が存在し、投射細胞と網様体細胞へのシ

ナプス伝達を修飾するという仮説を立て、本研究をすすめた。また、視床の感覚情報処理にはアセチルコリン (ACh) も重要な位置づけを持つ。ACh と視床皮質シナプスにおける解析では、これまでにムスカリン受容体に関する研究が中心である一方、ニコチン受容体に関する解析はほとんど行われていない。ニコチン受容体はカイニン酸受容体同様、シナプス前後部でシナプス伝達の修飾因子として働き、かつ視床や体性感覚野皮質第6層の錐体細胞での発現率も高い。そこで本研究では、ニコチン受容体と視床皮質シナプス伝達についても、カイニン酸同様に検討した。視床投射細胞には大量の皮質視床シナプス入力と同時に、末梢からの感覚情報を司る内側毛帯シナプスの入力をうけている。内側毛帯シナプスの伝達についてもカイニン酸の影響を解析した。

2. 研究の目的

活動依存的に皮質視床シナプスを介した視床投射細胞の興奮性抑制性入力 (feed-forward inhibition) を調節する分子機構を明らかにすることを目的とする。特に、皮質視床シナプスの起始細胞に多く発現しているカイニン酸受容体に着目し、そのシナプス前性作用を視床投射細胞と網様体細胞で明らかにする。同時に、内側毛帯シナプスへのカイニン酸の影響も観察する。また、カイニン酸同様に、視床投射細胞における内側毛帯シナプスと皮質視床シナプス伝達に対する ACh の影響について、シナプス前性作用を中心に検討する。ムスカリン受容体とニコチン受容体の関与について解析する。

3. 研究の方法

生後 19 - 22 日齢のマウスを用い、視床の水平断スライスを作成する。内包を刺激することにより、投射細胞、網様体細胞から皮質視床シナプス電流をホールセルパッチクランプ法で記録する。抑制性入力は GABA_A, B 受容体の遮断薬を用いて遮断しておく。外液にカイニン酸を低濃度から濃度依存的に投与し、それぞれの細胞のシナプス伝達効率を測定する。同時に、シナプス前性の指標である paired pulse 刺激、CV 値などを測定する。内側毛帯シナプスについても同様の実験をおこなう。ACh に関しても同様にムスカリン受容体のアンタゴニスト、アゴニストおよび、ニコチン受容体のアゴニスト、アンタゴニストをそれぞれ数種ずつを選び、外液に濃度依存的に投与したときの反応を観察した。

4. 研究成果

1. カイニン酸受容体における視床シナプスにおける作用。

研究目的の実験に対しては、投射細胞と網様体細胞から同時にパッチ記録を行った。カイニン酸を細胞外から投与すると、投射細胞への興奮性後シナプス電流 (EPSC) の振幅は減弱した。一方、視床網様体細胞の EPSC の振幅は増大した。これらの変化は濃度依存的であった。EPSC の変化に伴い、paired pulse ratio (PPR), CV 値の相反的に変化から、シナプス前性の変化であることが示唆された。一方、内側毛帯シナプス伝達はカイニン酸では全く影響を受けなかった。

さらに NMDA 受容体の open channel blocker である MK-801 を投与し、NMDA 受容体を介する EPSC をこの二つの細胞で、カイニン酸の存在有無により解析した。この実験で、前シナプスからの vesicle の放出確率を明らかにすることができる。

投射細胞ではカイニン酸により、皮質投射細胞シナプスでは放出確率が減弱し、反対に、皮質網様体シナプスでは放出確率は上昇していた。

この機構として、シナプス前終末のカイニン酸受容体の差異は起因になっているのではないかという仮説をたて、カイニン酸受容体のサブタイプの一つである GluR5 のアゴニストを投与し、投射細胞、網様体細胞から皮質視床シナプス EPSC を観察した。結果、視床投射細胞への皮質シナプスでは一種である GluR5 受容体が関与するが、網様体細胞へのシナプスでは GluR5 の寄与はないことも明らかした。さらに、皮質視床シナプスを高頻度刺激で刺激をして、シナプス感激の内因性グルタミン酸の濃度を上昇させて、カイニン酸受容体を遮断する実験をおこなった。AMPA 受容体選択的拮抗薬である GYKI53655 を投与して、皮質視床シナプスを刺激して得られる NMDA 受容体を介したシナプス電流を各々の細胞から記録する。高頻度刺激によって得られる EPSC の振幅は投射細胞ではカイニン酸受容体の遮断薬である NBQX の投与で増大した。一方、網様体細胞の高頻度刺激 EPSC の振幅は NBQX で減少した。

これらの結果から、皮質視床シナプス入力はシナプス前性カイニン酸受容体により、投射細胞には減弱し、網様体細胞は亢進する。網様体細胞は投射細胞に抑制性シナプスを作ることから、結果的に投射細胞の活動性を減弱させる方向に働くことを明らかにした。このようなメカニズムは、生体において癲癇などの異常興奮が皮質に生じると視床がそれにより科興奮にならないようなシステムとして働いているのかもしれない。実際、家族制癲癇

に一種に GluR5 の遺伝子異常が見つかった。これらの成果は *Journal of Physiology* **587**, 999-1012 (2009) に発表した。

2. アセチルコリン受容体の視床シナプス伝達における作用

一方、研究目的の実験に対しては、内側毛帯線維刺激に対する ACh (1 mM, 5 min) の影響を検討したところ、ACh のバス内処置は内側毛帯シナプスでの EPSC の振幅に対して全く影響を及ぼさなかった。しかしながら、皮質視床投射繊維刺激によって得られる EPSC の振幅は、ACh の処置により処置濃度依存的に著明に減弱した。また、皮質視床投射繊維の paired-pulse stimulation により PPR を算出したところ、皮質視床シナプスにおける PPR 値は ACh の処置により有意に増加した。このことから、ACh 処置による皮質視床シナプス伝達の減弱は、プレシナプスからの神経伝達物質の放出抑制に基づく可能性が示唆された。こうした ACh によるシナプス伝達の減弱は、ニコチン受容体拮抗薬である DH \cdot E の前処置により有意に抑制された。また、ニコチン受容体作動薬 DMPP の処置では、ACh と同様の効果が観察された。以上のことから、視床体性感覚シナプスにおける ACh は、皮質視床シナプス選択的な修飾作用を示し、ニコチン受容体を介して皮質視床シナプス伝達を減弱させることが明らかとなった。また、ACh の処置は、ニコチン受容体の活性化依存的に直接投射細胞へカチオンの流入を誘導することも明らかにした。このことから、視床体性感覚シナプスでの ACh は、皮質からフィードバックされる情報を一時的に遮断させるのと同時に、直接的に投射細胞を活性化させ、末梢からの感覚入力を皮質へ積極的に伝達させている可能性が示唆される。現在、本実験は進行中である。

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2件)

*Miyata M. & Imoto K.

Contrary roles of kainate receptors in transmitter release at corticothalamic synapses onto thalamic relay and reticular neurons. *Journal of Physiology*. **587**, 999-1012 (2009) 査読の有

Hayashi T Miyata M Nagata T Izawa Y Kawakami Y、Intracerebroventricular fluvoxamine administration inhibited pain behavior but increased Fos expression in

affective pain pathways *Pharmacology, biochemistry, and behavior* **91**, 441-446, 2009 査読の有

3 *Miyata M. Distinct properties of corticothalamic and primary sensory synapses to thalamic neurons.

Neurosci. Res. (2007)59:377-382.

査読の有

[学会発表](計4件)

Mariko Miyata, Kieji Imoto

Presynaptic roles of kainate receptors on corticothalamic synaptic transmission onto thalamic relay and reticular neurons Society for Neuroscience (Neuroscience 2008) Washington, DC. USA 2008.11

宮田麻理子、井本敬二

Bidirectional roles of kainate receptors on the release at corticothalamic synapses onto thalamic relay and reticular neurons 第31回 日本神経科学大会 東京 2008.7

Nagumo Y Takeuchi Y Kawakami Y Imoto K Miyata M

Neuromodulatory effect of acetylcholine on synaptic transmission in the ventrobasal thalamic nucleus c 第31回 日本神経科学大会 東京 2008.7

Takeuchi Y. Imoto K. Miyata M.

Developmental change of lemniscus synapses on the mice ventrobasal thalamus 第31回 日本神経科学大会 東京 2008.7

[その他]

中日新聞 「研究室発：痛みの解明、治療に生かす」 2008年4月29日 朝刊

6. 研究組織

(1)研究代表者

宮田麻理子 (MIYATA MARIKO)
東京女子医科大学・医学部・教授
研究者番号：70281631

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし

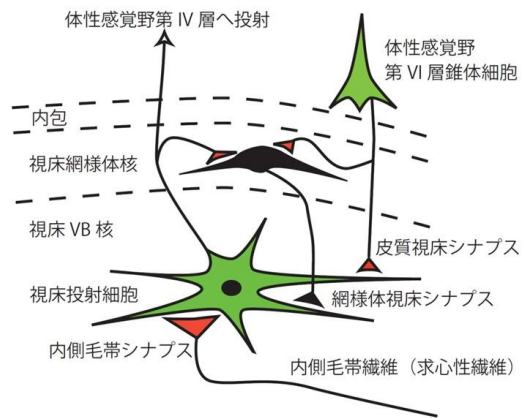


図 1 視床 VB (VPM+VPL) 核の神経回路