

## 様式 C-19

# 科学研究費補助金研究成果報告書

平成 21 年 6 月 21 日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2007-2008

課題番号：19500355

研究課題名 (和文) 前脳基底核ニューロン間相互作用とその生後発達変化の解析

研究課題名 (英文) Analyses of interaction among neurons in the basal forebrain and its developmental changes

研究代表者

羽山 俊彦 (MOMIYAMA TOSHIHIKO)

東京慈恵会医科大学・医学部・教授

研究者番号：20230055

研究成果の概要：

I) 前脳基底核の興奮性シナプス伝達におけるドーパミン D1 型受容体と P/Q 型カルシウムチャネルとの選択的共役を明らかにした (Momiya & Fukazawa, J Physiol, 2007)。

II) 次いでこの論文内容を発展させる形で生後発達に関する解析を行ない、D1 型受容体と P/Q 型チャネルおよびアデニル酸シクラーゼ系との選択的共役は、生後発達のどの段階でも不変という結果を得た。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2008 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：神経科学

科研費の分科・細目：神経・筋肉生理学

キーワード：シナプス伝達、パッチクランプ、ドーパミン、スライス

### 1. 研究開始当初の背景

前脳基底核 (basal forebrain nuclei; 以下 BF と略) は中枢神経系におけるアセチルコリン性ニューロンの起始核群であり、大脳皮質、海馬等様々な部位に線維を投射している。また、これまでの行動学および臨床医学的研究によれば、BF ニューロンの変性と、アルツハイマー病等の認知、学習、記憶障害性疾患が密接に関連していることが示唆されてい

る。

BF にはアセチルコリン性ニューロンとともに GABA 性投射ニューロンおよび介在ニューロンが混在していることが知られているが、BF ニューロン間の神経回路構成やそのシナプス伝達機構についての基礎的知見は少ない。申請者はこれまでに、BF ニューロンへのグルタミン酸性および GABA 性シナプス伝達に対するドーパミン受容体を介

する抑制機構の解析を行なった(Momiyama et al., J Physiol., 1996; Momiyama & Sim, J. Neurosci, 1996)。また、BFにはドーパミン受容体以外にもおよびメタボトロピックグルタミン酸受容体等、様々な生理活性物質受容体が豊富に存在することが報告されており、BFニューロン間のシナプス伝達がこれらの生理活性物質により多様な修飾作用を受ける可能性が浮上してきた。しかしながら、これらの研究では、アセチルコリン性ニューロンが多数を占めると示唆されている“大型”ニューロンを対象としており、形態学的な同定は行っていない。申請者の予備的研究により、BFのGABA性ニューロンはGABAの他にカルシウム結合蛋白を細胞内に持ち、その蛋白の種類によりいくつかのサブタイプに分けられることも明らかになってきた。したがって、このように多彩なニューロンから構成されるBF内の神経回路網および伝達機構を明らかにし、ひいてはBFからの出力制御機構を解明するためには、形態学的に同定された各種BFニューロン間のシナプス伝達機構を系統的に解析することが不可欠と考えられる。

## 2. 研究の目的

以上の背景により、本研究では、以下の電気生理学および形態学的解析を行なう。

**平成19年度**：形態学的に同定されたBF内アセチルコリン性およびGABA性ニューロン間のシナプス伝達機構およびその修飾機構の解析

**平成20年度**：この伝達機構および修飾機構の生後発達変化の解析

## 3. 研究の方法

生後10-15日齢のGADマウスを定位脳固定装置に固定し、マイクロシリッジを用いて、Cy3-192IgGを右側の側脳室に約3 $\mu$ l注入する。3-6日後にマウスを断頭し、マイクロスライサーを用いて前脳基底核を含む厚さ300 $\mu$ mの冠状断スライスを作成する。蛍光顕微鏡下に、GABA性ニューロンは黄緑色、アセチルコリン性ニューロンは赤色の細胞として同定できる。アセチルコリン性ニューロンからホールセル記録を行ない、近傍刺激によりシナプス電流を誘発する。

シナプス電流に対するドーパミン系薬物の効果およびカルシウムチャンネルサブタイ

プ選択的ブロッカーの効果を解析することにより、伝達物質遊離を制御するドーパミン受容体とカルシウムチャンネルとの共役を検討する。さらにその生後は発達変化を解析する。

## 4. 研究成果

I) 前脳基底核の興奮性シナプス伝達におけるドーパミンD1型受容体とP/Q型カルシウムチャンネルとの選択的共役を明らかにした(Momiyama & Fukazawa, J Physiol, 2007)。

II) 次いでこの論文内容を発展させる形で以下の結果を得た。

上記論文で解析した前脳基底核の興奮性シナプス伝達において

1) 関与するカルシウムチャンネルサブタイプの中で、N型の関与は生後発達(P21-P42)に伴って減少し、一方P/Q型チャンネルの関与は増加した。

2) ドーパミンD1型受容体アゴニストによるシナプス前抑制は、P/Q型チャンネル関与は増加に伴って増加した。

3) 生後発達のどの段階においても、P/Q型チャンネルブロッカーの効果が平衡に達した後にはD1型受容体アゴニストによるシナプス前抑制は遮断された。

4) ドーパミンD1型受容体はアデニル酸シクラーゼ系を活性化するサブタイプある。同系の活性化剤であるforskolinによるシナプス伝達抑制効果も、D1型受容体アゴニストによる抑制効果同様、生後発達に伴って増大した。

5) 生後発達のどの段階においても、forskolinの効果が平衡に達した後にはD1型受容体アゴニストによるシナプス前抑制は遮断された。

6) 以上の結果から、上記論文で見出したD1型受容体とP/Q型チャンネルおよびアデニル酸シクラーゼ系との選択的共役は、生後発達段階で不変と考えられる。

## 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 1 件)

- (1) Momiyama, T & Fukazawa, Y. D<sub>1</sub>-like dopamine receptors selectively block P/Q-type calcium channels to reduce glutamate release onto cholinergic basal forebrain neurones of immature rats.

*J. Physiol (Lond)* 580, 103-117 (2007).

〔学会発表〕(計 9 件)

1) Momiyama T

Developmental changes in the calcium channel and D1-like receptors involved in the glutamatergic transmission onto rat basal forebrain cholinergic neurons.

9th International conference on AD/PD、2009年3月、Prague

2) Mitsumori T, Tanaka Y, Furuyashiki T, Matsuoka T, Kayahara T, Momiyama T, Namba H, Shichi H, Kimura K, Nawa H, Mizoguchi A, Narumiya S

Prostaglandin E receptor EPI enhances GABA-mediated inhibition of dopaminergic neurons in the substantia nigra and suppresses dopamine level in dorsal striatum.

第 31 回日本神経科学大会、2008 年 7 月、東京

3) 斉藤憲史、柿崎利和、靱山俊彦、片岡宏隆、三品昌美、柳川右千夫

線条体小胞型 GABA トランスポーター欠損による運動失調

第 31 回日本神経科学大会、2008 年 7 月、東京

4) Momiyama T

Developmental increase in the contribution of P/Q-type calcium channels and D1-like receptors in the modulation of excitatory transmission onto rat basal forebrain cholinergic neurons.

7<sup>th</sup> Forum of European Neuroscience、2008 年 7 月、Geneva

5) 靱山俊彦、笹岡俊邦、佐藤朝子、勝木元也  
ドーパミン受容体ノックアウトマウス線条体の抑制性シナプス伝達解析

第 82 回日本薬理学会年会、2009 年 3 月、横浜

6) 靱山俊彦、笹岡俊邦、佐藤朝子、勝木元也  
ドーパミン受容体ノックアウトマウス線条体の GABA 性シナプス伝達解析

第 31 回日本神経科学大会、2008 年 7 月、東京

7) 靱山俊彦

前脳基底核アセチルコリン性ニューロンへの興奮性シナプス伝達に関するカルシウムチャンネルとドーパミンD1型受容体の生後発達変化

第 85 回日本生理学会大会、2008 年 3 月、東京

8) 靱山俊彦

前脳基底核アセチルコリン性ニューロンへのグルタミン酸遊離を制御するカルシウムチャンネルサブタイプとD1型受容体の生後発達変化

第81回日本薬理学会年会、2008年3月、横浜。

9) 靱山俊彦

前脳基底核アセチルコリン性ニューロンにおける興奮性シナプス伝達に関するカルシウムチャンネルとD1型受容体を介するシナプス前抑制の生後発達変化

第 30 回日本神経科学大会・第 50 回日本神経化学学会大会・第 17 回日本神経回路学会大会合同大会(Neuro2007)、2007 年 9 月、横浜。

〔図書〕(計 1 件)

(1) Momiyama, T.

Developmental changes in the calcium channel and D1-like receptors involved in the glutamatergic transmission onto rat basal forebrain cholinergic neurons

*Medimond S.r.l. International Proceedings 2009*, in press.

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

6. 研究組織

(1) 研究代表者

粂山 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

(3) 連携研究者

なし