

令和 4 年 4 月 4 日現在

機関番号：17401

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K16262

研究課題名（和文）マウス線条体および脚内核において見出した詳細な形態学的性質と神経連絡の関係

研究課題名（英文）Relationship between detailed morphological properties and neural connections found in mouse striatum and entopeduncular nucleus

研究代表者

宮本 雄太（Miyamoto, Yuta）

熊本大学・大学院先導機構・助教

研究者番号：30816822

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、マウスの脳において線条体および脚内核と呼ばれる二つの領域の詳細な形態学的性質を免疫組織化学とトレーサー注入実験を組み合わせることで明らかにすることを目的とした。線条体では、その尾側部において従来の知見とは異なる特殊な性質を示す領域を見出した。脚内核においては、今まで知られていなかった新たなサブタイプを有する神経細胞の存在とその投射先を明らかにした。これらの成果は、それぞれ海外の学術雑誌に報告した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の対象部位である線条体および脚内核は、大脳基底核と呼ばれる脳領域の一部である。基底核は、その他にも複数の神経核（特定の性質をもつ神経細胞が集まった領域）から構成され、それぞれが複雑な神経連絡を有している。大脳基底核の障害は、パーキンソン病やジストニアといった神経変性疾患を引き起こすが、これらが難治性である理由として、基底核を構成する個々の神経核とそれらの結合関係が不明瞭な点が挙げられる。本研究で見出した所見は、基底核の複雑な形態および機能の理解を促し、基底核疾患の病態解明に繋がることが期待される。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study was to clarify the detailed morphological properties of the striatum and the entopeduncular nucleus in the mouse brain by combining immunohistochemistry and tracer injection experiments. We found that there are areas in the caudal striatum that exhibit specific properties that differ from conventional findings. In the EPN, we clarified the existence of neurons with new subtypes that were unknown until now and their projection destinations. Each of these achievements was reported to overseas academic journals.

研究分野：神経解剖学

キーワード：線条体 脚内核 亜区域 形態学 神経連絡

1. 研究開始当初の背景

大脳基底核は、大脳皮質下に存在する複数の神経核から構成される。従来の研究から、基底核の構造は「直接路・間接路」に集約される比較的単純な神経回路の概念に基づき理解され、それはパーキンソン病やジストニアなどの病態理解に用いられてきた。しかしながら、基底核の神経活動を正確に解決するためには多くの疑問が残されている。その要因として、基底核を構成する個々の神経核の内部構造とそれに伴う個々の神経核間を結ぶ神経連絡の複雑さが挙げられる。私は、これまでに基底核を構成する神経核の中でも基底核外部からの情報を受け取る線条体と基底核外部へと情報を伝達する脚内核の二つの神経核に焦点を当て、それらの内部で認められる不均一な免疫染色性を示す亜区域を追求してきた。その結果、線条体においては、ストリオソーム/マトリックスと呼ばれる二つの区画に多様性を見出し、それらの局在に基づいた三次元再構築データから脳地図を作成した。その地図をもとに、各亜区域に局在する神経細胞の分布や大脳皮質からの入力様式を明らかにした(Miyamoto et al., 2018)。脚内核においても従来とは異なる神経細胞の分布を三次元データによって見出した(Miyamoto and Fukuda, 2015)。以上の結果は、これまで信じられてきた基底核の概念に大きな変更を迫るものであり、この研究をさらに発展させるために本研究の着想に至った。

2. 研究の目的

本研究は、マウスの線条体および脚内核内部の亜区域間における詳細な結合関係を明らかにし、基底核の理解を深めることが目的であった。具体的には、私がこれまでに見出してきた線条体の内部構造が多様なストリオソーム/マトリックス区画の局在に基づいて複数の亜区域に区別できること、脚内核の内部構造がニューロンのサブタイプによる分布や substance P (SP) の染色性に基づいてコア/シェルの二重構造からなること、に基づいて線条体の亜区域から脚内核の亜区域への投射様式を免疫組織化学とトレーサー注入実験を組み合わせた手法により明らかにすることである。

3. 研究の方法

本研究では、三重免疫染色により各神経核の亜区域を同定し、順行性と逆行性のトレーサーをそれぞれ線条体と脚内核の亜区域に注入することで両者の結合関係を検討した。

線条体への順行性トレーサーの注入

線条体の亜区域（背内側部、腹内側部、背外側部、腹外側部、尾側部）に順行性トレーサーを打ち分けて、脚内核亜区域のどこにトレーサー陽性の軸索終末が分布するのかを確認した。

脚内核への逆行性トレーサーの注入

脚内核の亜区域（コア/シェル）に逆行性トレーサーを注入し、線条体の亜区域のどこにトレーサー陽性の神経細胞が認められるか、またストリオソーム/マトリックスのどちらの区画でよりそれらが認められるかを検討した。

4. 研究成果

本研究では、線条体および脚内核間の結合関係の調査に先立って実施した多重免疫染色のデータから、尾側線条体の腹側部において従来とは異なる性質を示す3つのサブエリアが存在することを見出した。この領域は Tri-laminar part と名付けられ、各 part における投射および介在ニューロンの分布を解析して海外の学術雑誌に報告した(Miyamoto et al., 2019)。このサブエリアは、SP および Enkephalin (ENK) 染色によって同定される領域であり、淡蒼球 (GP) に接し、SP 染色により強くラベルされる部分が Medial (M) division、それとは反対側に位置し Enk により濃染される部分が Lateral (L) division、その間の領域が Intermediate (I) division である (図1)。また、線条体はドーパミン作動性ニューロンから広く投射を受けることが知られているが、Tri-laminar part においては、I division だけがドーパミンニューロンの軸索終末マーカーである Tyrosine hydroxylase (TH) の染色が極めて弱いことを見出した。一般に、線条体を構成する投射ニューロンには、dopamine receptor type 1 (D1R) および type 2 (D2R) を発現する二種類のニューロンが存在し、それぞれが特定の亜区域にやや偏って局在している (おおよそどちらかのニューロンが 6:4 の割合で偏在する)。興味深いことに、Tri-laminar part においては、その傾向が極めて大きく、M division の約 9 割は D1R タイプが、I division の約 8 割は、D2R タイプが占めるという非常に偏った構成であることを明ら

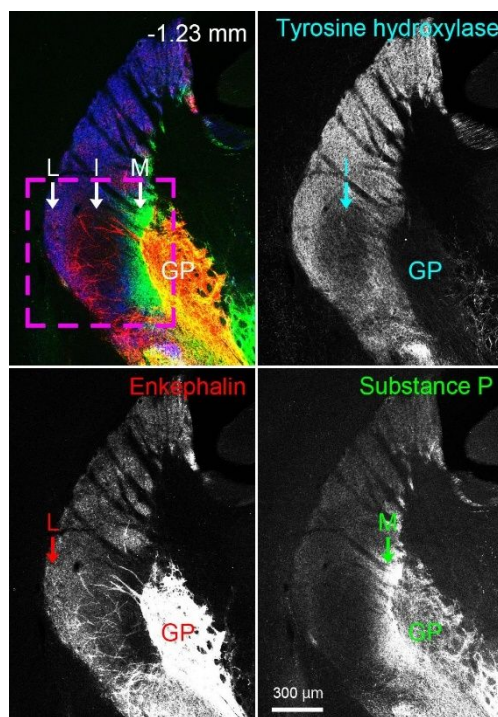


図1 線条体尾側部におけるTri-laminar partsの免疫染色性
M: Medial division, I: Intermediate division, L: Lateral division
数字はBregmaからの距離を表す

図1 線条体尾側部におけるTri-laminar partsの免疫染色性
M: Medial division, I: Intermediate division, L: Lateral division
数字はBregmaからの距離を表す

かにした。この尾側線条体は、従来から知られている吻側線条体とは大きく異なった役割を担っていることが報告され、近年注目されている。本研究で明らかにした形態学的な所見は、今後より研究の進展が期待される尾側線条体に関する研究の基盤になると確信している。

また、脚内核においてもその内部構造を多重免疫染色により区分する過程で、新たなサブタイプを有するニューロンの存在を見出し、その局在と投射先を明らかにした (Miyamoto and Fukuda, 2021)。脚内核は、従来から視床の運動核に投射している Parvalbumin (PV) 陽性ニューロンと外側手綱核へ投射している Somatostatin (SOM) 陽性ニューロン、前頭皮質へ投射している Choline acetyltransferase (ChAT) 陽性ニューロンから構成されることが知られている。我々は、これらの三種類のニューロンに加えて、新たに Nitric oxide synthase (NOS) を発現するサブタイプが存在することを見出し、それらの脚内核における局在を明らかにした (図2、3)。さらに、トレーサー注入実験に基づいて NOS 陽性ニューロンは SOM 陽性ニューロンと同様に外側手綱核を主な標的とすることを見出した。基底核は、従来から運動制御との関連が深い領域として示されており、脚内核の投射先としても視床の運動核を中心とした神経回路の研究が行われてきた。しかしながら、近年では脚内核 - 外側手綱核回路が報酬や嫌悪刺激に関連した行動学習に重要な役割を担っていることが示唆されており、我々の所見においても脚内核を構成するニューロンの6割が外側手綱核へ投射するタイプであることを見出した。これは、脚内核が運動制御よりもむしろ行動学習に優れた役割を担う領域であることを示唆している。本研究で見出した外側手綱核へ投射している NOS 陽性ニューロンのより詳細な機能を明らかにすることは基底核の正確な機能を明らかにする上で必須の課題である。

本研究の本来の目的は、線条体と脚内核における亜区域の結合関係を明らかにすることであった。上述した研究方法に従って、目的達成に必要なデータはすべて取得済みであり、現在は学術雑誌への投稿に向けて論文を作成中である。

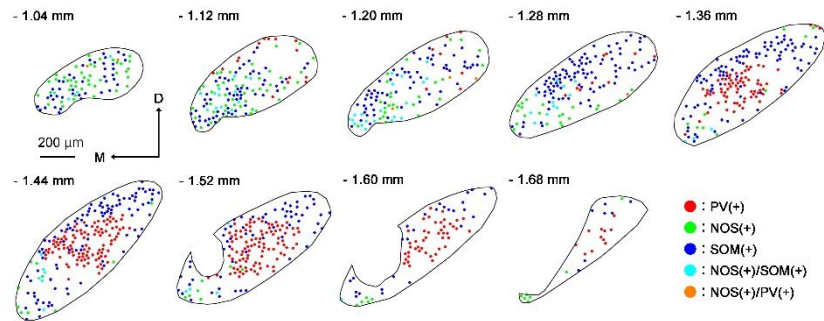


図2 脚内核を構成する5種類のニューロンの分布
各数字はBregmaからの距離を表す M: Medial, D: Dorsal

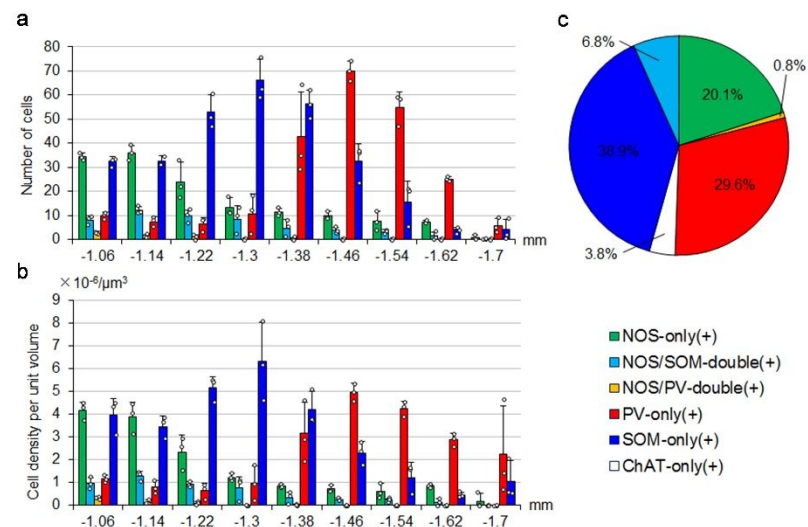


図3 脚内核に分布するニューロンの定量解析
a, b) 吻尾軸における脚内核ニューロンの分布、横軸はBregmaからの距離、縦軸は細胞数(a)と細胞密度(b)を示す。c) 脚内核を構成するニューロンの割合

本研究で見出した外側手綱核へ投射している NOS 陽性ニューロンのより詳細な機能を明らかにすることは基底核の正確な機能を明らかにする上で必須の課題である。

本研究の本来の目的は、線条体と脚内核における亜区域の結合関係を明らかにすることであった。上述した研究方法に従って、目的達成に必要なデータはすべて取得済みであり、現在は学術雑誌への投稿に向けて論文を作成中である。

< 引用文献 >

Y Miyamoto, T Fukuda. The habenula-targeting neurons in the mouse entopeduncular nucleus contain not only somatostatin-positive neurons but also nitric oxide synthase-positive neurons. *Brain Struct Funct* 226, 1497 - 1510, 2021.

Y Miyamoto, I Nagayoshi, A Nishi, T Fukuda. Three divisions of the mouse caudal striatum differ in the proportions of dopamine D1 and D2 receptor-expressing cells, distribution of dopaminergic axons, and composition of cholinergic and GABAergic interneurons. *Brain Struct Funct* 224, 2703 - 2716, 2019.

Y Miyamoto, S Katayama, N Shigematsu, A Nishi, T Fukuda. Striosome-based map of the mouse striatum that is conformable to both cortical afferent topography and uneven distributions of dopamine D1 and D2 receptor-expressing cells. *Brain Struct Funct* 223, 4275 - 4291, 2018.

Y Miyamoto, T Fukuda. Immunohistochemical study on the neuronal diversity and three-dimensional organization of the mouse entopeduncular nucleus. *Neurosci Res* 94, 37-49, 2015

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Miyamoto Yuta, Fukuda Takaichi	4. 巻 -
2. 論文標題 The habenula-targeting neurons in the mouse entopeduncular nucleus contain not only somatostatin-positive neurons but also nitric oxide synthase-positive neurons	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Brain Structure and Function	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00429-021-02264-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Miyamoto Y, Nagayoshi I, Nishi A, Fukuda T	4. 巻 224
2. 論文標題 Three divisions of the mouse caudal striatum differ in the proportions of dopamine D1 and D2 receptor-expressing cells, distribution of dopaminergic axons, and composition of cholinergic and GABAergic interneurons	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Brain Structure and Function	6. 最初と最後の頁 2703-2716
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00429-019-01928-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Sugiyama Keita, Kuroiwa Mahomi, Shuto Takahide, Ohnishi Yoshinori N., Kawahara Yukie, Miyamoto Yuta, Fukuda Takaichi, Nishi Akinori	4. 巻 41
2. 論文標題 Subregion-Specific Regulation of Dopamine D1 Receptor Signaling in the Striatum: Implication for L-DOPA-Induced Dyskinesia	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 6388 ~ 6414
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1523/JNEUROSCI.0373-21.2021	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 宮本雄太、福田孝一
2. 発表標題 マウス脚内核に存在するNOS陽性ニューロンの投射領域の検討
3. 学会等名 第125回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 宮本雄太、福田孝一
2. 発表標題 マウス脚内核の内部区分とニューロンの分布領域の検討
3. 学会等名 第76回日本解剖学会・九州支部学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 宮本雄太、福田孝一
2. 発表標題 マウス脚内核に存在するNOS陽性ニューロンの投射領域の検討
3. 学会等名 第125回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 宮本雄太、福田孝一
2. 発表標題 マウスの線条体と脚内核に見出した新しい内部区分
3. 学会等名 次世代脳プロジェクト 冬のシンポジウム2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 宮本雄太、福田孝一
2. 発表標題 マウス脚内核に見出した新たな亜区域およびニューロンとその投射領域の検討
3. 学会等名 第51回日本臨床分子形態学会総会・学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 宮本雄太、永田陸、福田孝一
2. 発表標題 マウス脚内核のニューロン上に局在する軸索終末の免疫組織化学的解析
3. 学会等名 第77回日本解剖学会・九州支部学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 宮本雄太、福田孝一
2. 発表標題 マウス線条体および脚内核間に見出した結合関係
3. 学会等名 第127回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------