

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年6月1日現在

機関番号：63905

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21500378

研究課題名（和文） 覚醒下モデルマウスからニューロン活動を記録し、大脳基底核疾患の病態を解明する

研究課題名（英文） Pathophysiology of basal ganglia disorders analyzed by neuronal recording from mouse models in awake state

研究代表者

知見 聡美（CHIKEN SATOMI）

生理学研究所・統合生理研究系・助教

研究者番号：30396262

研究成果の概要（和文）：大脳基底核疾患の1つであり、病態が未だ不明であるジストニアの病態を解析することを目的として、2種類のジストニアモデルマウスの神経活動を覚醒下で記録した。その結果、大脳基底核出力部における異常な自発発火のパターンと、大脳皮質からの入力に対する異常な応答パターンが、ジストニアにおける症状発現に寄与していることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：Dystonia is a neurological disorder characterized by sustained or repetitive involuntary muscle contractions and abnormal postures. To understand the pathophysiology of dystonia, neurophysiological analyses were performed on two kinds of mouse models for dystonia in awake state. Abnormal spontaneous neuronal firings of the internal segment of the globus pallidus neurons (GPi) were observed in the mouse models. In addition, motor cortical stimulation evoked abnormal responses of the GPi neurons in the mouse models for dystonia. The results suggest that abnormal firings and cortically evoked response patterns of GPi neurons are participate in the abnormal motor control in dystonia.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

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：姿勢・運動制御

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 大脳基底核疾患の1つであるジストニアは、持続性または反復性の筋収縮により、四肢および体幹の異常運動を示す。臨床例から大脳基底核の異常であると考えられているが、正確な病態については不明であった。

(2) マウスには、多数の遺伝子改変動物や突然変異体が存在し、近年、数種類のマウスがジストニアのモデルとして提唱されている。しかしながら、マウスにおけるシステムレベルでの電気生理学の実験は、世界的に見ても非常に少なく、方法も確立されていなかったが、研究代

表者は、麻酔薬の影響を排除するため、マウスの頭部を無痛的に固定した状態で、覚醒下で神経活動を記録するシステムを確立し、マウスにおける神経記録を開始していた。

## 2. 研究の目的

本研究では、研究代表者が確立した記録システムを用いて、ジストニアのモデルマウスのニューロン活動を覚醒条件下で記録することにより、ジストニア症状発現の神経機構を解明することを目的とした。

## 3. 研究の方法

ジストニアには、原因遺伝子、症状の異なる多数のタイプが含まれる。本研究では、米国マウントサイナイ医科大学の Pullanipally Shashidharan 博士らが作製した DYT1 ジストニアのモデルマウス、および、藤田保健衛生大学の一瀬千穂博士らが作製したドーパ反応性ジストニアのモデルマウスを用い、運動制御の高次中枢である大脳基底核のニューロン活動を覚醒条件下で記録した。

実験に先立ち、十分にハンドリングを行ったマウスの頭部に、頭部を無痛的に固定するための固定具を装着する手術を行った。ニューロン活動を記録する際には、その固定具を用いてマウスの頭部を固定し、麻酔薬を投与せず、覚醒条件下で記録を行った。

大脳基底核のニューロン活動を記録し、自発発火の頻度とパターンを調べ、正常マウスとの比較を行った。また、大脳基底核は大脳皮質から入力を受け、その出力を再び大脳皮質に戻すループ構造を形成することによって運動制御に寄与していると考えられているので、大脳皮質運動野の上肢支配領域と顔面支配領域にそれぞれ電極を埋め込み、運動野の電気刺激に対する応答パターンについても解析した。

DYT1 ジストニアモデルについては、脳深部刺激療法の電極埋込手術の際に記録された頸部ジストニア患者における大脳基底核ニューロンの活動との比較も行った。

## 4. 研究成果

(1) 大脳基底核の出力部である淡蒼球内節のニューロンは、正常マウスにおいては約 50 Hz 程度の発火頻度で連続的に発火している。一方、DYT1 ジストニアのモデルマウスの淡蒼球内節ニューロンでは、平均発火頻度が約 20

Hz と著しく低下しており、バーストやポーズを含む異常な発火パターンを示していた (図 1)。

(2) また、正常マウスでは、大脳皮質運動野に電気刺激を与えると「興奮-抑制-興奮」の 3 相性の応答パターンを示すが (図 2 左)、DYT1 ジストニアモデルマウスにおいては、興奮のあとに長い抑制が続く異常な応答パターンを示した (図 2 右)。

(3) バーストやポーズを含む自発発火様式、および、大脳皮質由来の長い抑制は、ヒト頸部ジストニア患者で記録された淡蒼球内節ニューロンの活動様式 (図 3) の特徴と一致していた。

図 1. DYT1 ジストニアモデルマウスにおける淡蒼球内節ニューロンの自発発火

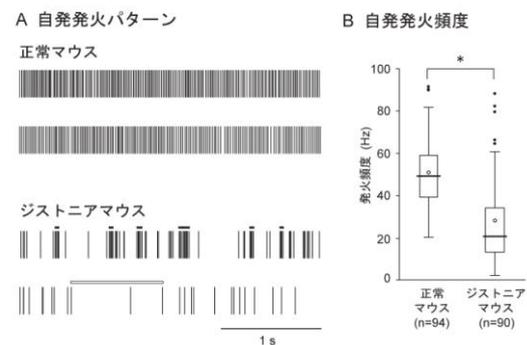
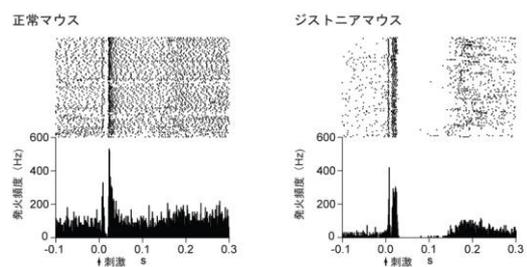
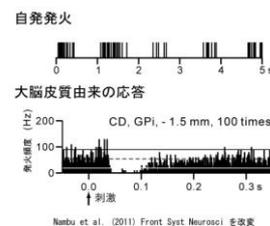


図 2. DYT1 ジストニアモデルマウスの淡蒼球内節ニューロンにおける大脳皮質の電気刺激に対する応答パターン



大脳皮質の電気刺激に対する応答を示した刺激前後時間ヒストグラム (100回加算)

図 3. 頸部ジストニア患者における淡蒼球内節ニューロンの活動

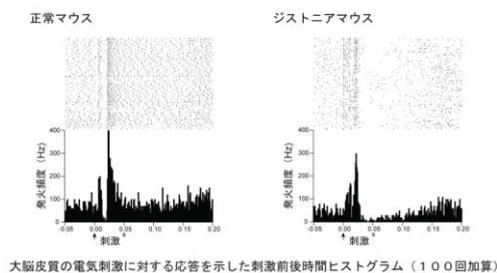


(4) ドーパ反応性ジストニアは、小児発症性

で、テトラヒドロピオプテリンの生合成の障害により、脳内のドーパミンが欠乏することによって発症する。ドーパ反応性ジストニアのモデルマウスにおいても、淡蒼球内節ニューロンでは、バーストを伴う異常な自発発火が観察された。

(5) また、正常マウスでは、大脳皮質運動野に電気刺激を与えると「興奮-抑制-興奮」の3相性の応答パターンを示すが(図4左)、ドーパ反応性ジストニアモデルマウスにおいては、3相性応答のうちの抑制が著しく減弱し、3相性応答のあとに抑制が続く異常な応答パターンを示した(図4右)。

図4. ドーパ反応性ジストニアモデルマウスの淡蒼球内節ニューロンにおける大脳皮質の電気刺激に対する応答パターン



大脳皮質の電気刺激に対する応答を示した刺激前後時間ヒストグラム(100回加算)

(6) 以上の結果から、ジストニアの症状発現のメカニズムを考察した。大脳基底核の出力部である淡蒼球内節は連続的に発火し、大脳皮質に興奮性入力を送る視床の活動を常に抑制している。そして運動を行う時には、淡蒼球内節ニューロンの活動が一時的に抑制されることにより、視床が脱抑制され、適切な運動を起こすことが出来ると考えられている。しかしながら、DYT1ジストニアモデルマウスにおいては、淡蒼球内節ニューロンの自発発火頻度が著しく低下しているため、視床を十分に抑制出来ず、不随意運動が起こりやすい状態になっているのに加え、運動を行う際に、淡蒼球内節ニューロンが不必要に長く抑制されるため、適切タイミングで適切な部位の運動を行うことが出来ず、不必要な運動が起こると考えられた。一方、ドーパ反応性ジストニアのモデルマウスの淡蒼球内節ニューロンでは、3相性応答のうちの抑制が減弱し、3相性応答の後に再び強い抑制が生じているため、適切なタイミングで運動を行うことが出来ず不随意運動が起こると考えられた。

(7) 本研究では、発現する症状の異なる2種類のジストニアのモデルマウスのニューロン活動を覚醒条件下で記録す

ることにより、不随意運動発現のメカニズム解明に迫るデータを得た。今後、さらに解析を進めることにより、これらのジストニアの正確な病態を明らかにすることが出来ると考えている。また、正確な病態を明らかにすることにより、ジストニアの効果的な治療法の開発にも貢献できると考えている。

#### 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)

1. Nambu A, Chicken S, Shashidharan P, Nishibayashi H, Ogura M, Kakishita K, Tanaka S, Tachibana Y, Kita H, Itakura T (2011) Reduced pallidal output causes dystonia. *Front Syst Neurosci* 5, 89: 1-6 (査読あり)
2. 知見聡美 (2009) 覚醒下モデルマウスからニューロン活動を記録し、大脳基底核疾患の病態を解明する. *日本比較生理生化学* 26(4): 169-174 (査読あり)

[学会発表] (計11件)

1. 知見聡美, 南部篤 (2012.3.31) 淡蒼球内節-脳深部刺激療法の作用機序の解析. 第89回日本生理学会大会、松本市総合体育館(長野)
2. 佐野裕美, 知見聡美, 疋田 貴俊、小林和人, 南部篤 (2012.3.31) 線条体-淡蒼球投射ニューロンが制御する運動調節機構の解明. 第89回日本生理学会大会、松本市総合体育館(長野)
3. Chicken S, Nambu A (2012.2.23) High-frequency pallidal stimulation disrupts information flow through the pallidum by GABAergic inhibition. *Frontiers in Primate Neuroscience Researches*, 東京医科歯科大学(東京)
4. 知見聡美, 南部篤 (2011.11.1) 淡蒼球脳深部刺激療法の作用機序の検討. 第58回

- 中部日本生理学会、福井県民ホール (福井)
5. 知見聡美, 一瀬千穂, 一瀬宏, 近藤一直, 南部篤 (2011.9.15) ドーパ反応性ジストニアモデルマウスにおける大脳基底核ニューロンの活動。第34回日本神経科学学会、パシフィコ横浜 (横浜)
  6. 知見聡美, 南部篤 (2011.7.3) 淡蒼球脳深部刺激法の作用機序の検討。第26回日本大脳基底核研究会、パレスホテル箱根 (箱根)
  7. Chiken S, Ohta C, Sato A, Sasaoka T, Katsuki M, Kurokawa M, Nambu A (2011.6.2) Dopamine D1 receptor modulates neurotransmission through the basal ganglia. 8th International Congress of Comparative Physiology and Biochemistry, 名古屋国際会議場 (名古屋)
  8. Chiken S, Ohta C, Sato A, Sasaoka T, Katsuki M, Kurokawa M, Nambu A (2010.12.16) Functional role of dopamine D1 and D2 receptors in information processing through the basal ganglia. 41th NIPS International Symposium. New Frontiers in Brain Science: Towards Systematic Understanding of Human Beings, 岡崎カンファレンスセンター (岡崎)
  9. 知見聡美, 太田力, 佐藤朝子, 笹岡俊邦, 勝木元也, 黒川信, 南部篤 (2010.9.4) Functional role of dopamine D1 receptors in information processing through the basal ganglia analyzed by neuronal recording from transgenic mice in awake state. Neuro 2010, 神戸コンベンションセンター (神戸)
  10. 知見聡美, 太田力, 佐藤朝子, 笹岡俊邦, 勝木元也, 黒川信, 南部篤 (2010.7.17) 大脳基底核内情報伝達におけるドーパミンD1およびD2受容体の機能。日本比較生理生化

- 学会第32回大会、九州産業大学 (福岡)
11. 知見聡美, Pullanipally Shashidharan, 南部篤 (2009.10.23) 覚醒下モデルマウスの神経活動を記録し、ジストニアの病態を解明する。日本比較生理生化学第31回大会、千里ライフサイエンスセンター (大阪)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

知見 聡美 (CHIKEN SATOMI)  
生理学研究所・統合生理研究系・助教  
研究者番号: 30396262