

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 24 日現在

機関番号：82674

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24500468

研究課題名(和文)「注意」における視床線条体入力 of 生理的役割

研究課題名(英文)Physiological roles of thalamostriatal inputs in the attention shift

## 研究代表者

三浦 正巳 (Miura, Masami)

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・研究副部長

研究者番号：40291091

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：感覚情報を伝える視床から行動選択を担う線条体への入力、目立った刺激に注意を向けて進行中の行動を修正すると考えられている。線条体のコリン作動性介在ニューロンは、視床線条体入力を受けて興奮し、アセチルコリンを放出する。線条体はストリオソームとマトリックスの機能領域に分かれる。ストリオソームではμオピオイド受容体刺激がGABA伝達を抑制し、アセチルコリンはその抑制作用に拮抗した。このアセチルコリンによる拮抗作用はM1ムスカリニック受容体とPKCを介していた。こうしたコリン作動性介在ニューロンによる作用は、注意のシフトによって行動を修飾するメカニズムの一つであろう。

研究成果の概要(英文)：Striatal cholinergic interneurons, as well as medium-spiny projection neurons, receive the thalamostriatal inputs, and are frequently located at the borders of the striosomes (or patches) and matrix compartments. Cholinergic interneurons exhibited glutamatergic EPSCs in response to a thalamic stimulation. The excitation of cholinergic neurons would facilitate a release of acetylcholine. We found that endogenous acetylcholine modulated the suppressive effect of μ-opioid receptor activation on GABAergic IPSCs in the striosomes, not in the matrix. The modulatory effect of acetylcholine was mediated by M1 muscarinic acetylcholine receptors (mAChRs). It has been proposed that thalamostriatal inputs relate to the redirection of attention to the salient stimulus, and thus interrupt ongoing motor behavior. By means of mAChRs-mediated modulations on local circuits, cholinergic interneurons receiving thalamostriatal inputs could play a part in the striatal function of the attention shift.

研究分野：神経生理

キーワード：大脳基底核 アセチルコリン コリン作動性ニューロン コンパートメント 行動選択

### 1. 研究開始当初の背景

大脳基底核は大脳皮質の広い領野から入力を受け、視床を介して大脳皮質に戻る「大脳皮質-基底核ループ」を形成している。線条体は大脳皮質からの入力を受ける核であり、大脳皮質と連動して、予定された一連の運動、いわゆる慣れた行動をスムーズに実行させている。一方、線条体へは視床からも豊富に入力が送られている。新たな刺激や状況変化に、基底核の出力を対応させるためと考えられている。予想に反した意外な情報がきたときは、視床線条体入力が増加する。その結果、予定した行動を修正して次善の策を選ぶように働くと考えられている(図1、Minamimoto 2005)。

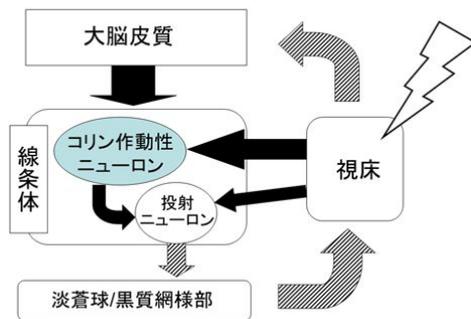


図1. 大脳皮質-基底核ループ

視床から線条体の投射ニューロンとコリン作動性ニューロンへの投射がある。新奇の情報入力(⚡)があると視床線条体入力が増え、基底核の出力が変化(スイッチ)する。

そして視床線条体入力を受ける神経細胞は、投射ニューロンとコリン作動性介在ニューロンである。コリン作動性介在ニューロンの数が全体の2 - 5%であることを考えると、その機能的な重要性が示唆される。

線条体はストリオソームとマトリックスの、少なくとも二つのコンパートメントに分かれる(Graybiel 1988)。そしてコリナージックニューロンはストリオソームの周囲に多く分布するので、両者が機能的に関係していると考えられている(Bernácer 2007, Van Vulpén 1996)。

### 2. 研究の目的

運動機能のみならず強化学習や行動選択を担う「大脳皮質-基底核ループ」の中で、「視床線条体入力」は「注意」や「決断と行動の修正」といった機能を持つと考えられている。この視床線条体入力は、線条体のコリン作動性介在ニューロンへ入力する。視床線条体入力によってコリン作動性ニューロンの活動がどのように影響を受けるかを調べる。またコリン作動性ニューロンは線条体のコンパートメントと解剖学的に関係が深い。コンパートメント間には様々な神経化学的な違い

がみついている。そこでアセチルコリンの作用に違いがあるかを調べる。特にコリン作動性ニューロンの発火様式に強く影響を与えるGABA性入力について詳しく調べる。視床入力を受けるコリン作動性ニューロンとその周囲の神経回路の挙動を明らかにし、視床線条体入力の作用を検討する。

### 3. 研究の方法

(1) 視床入力と大脳皮質入力を選択的に刺激するため、視床からの投射を残すように水平断スライスを作製した(Smeal 2007)。動物はP15-P30のマウスを用いた。脳梁の直上の大脳皮質と、内包の近傍の視床に刺激電極(タングステン双極同心円電極)を置くことで、皮質と視床を個別に刺激した。

(2) コンパートメント構造、ストリオソーム/マトリックスは染色無しで、蛍光タンパクを指標に見分けた。線条体のコンパートメントによってドーパミンニューロン投射に濃淡があり、ドーパミン線維をGFPで標識したマウス(TH-GFPマウス, Matsushita 2002)では、ストリオソームが明るく見える。単色蛍光顕微鏡でコンパートメントの蛍光を目視して記録位置を決めた。

(3) 直接路ニューロンの識別は、直接路の投射ニューロン選択的にYFPを導入した*Drd1*-YFPマウスとTH-GFPマウスとのダブルトランスジェニックマウスを用いた。

全ての実験で電気記録後に、ストリオソームのマーカーであるμオピオイド受容体抗体で免疫抗体染色を行い、記録した細胞の位置を確認した。

### 4. 研究成果

(1) 視床線条体スライスを作製し、視床を刺激して、線条体投射ニューロンとコリン作動性介在ニューロンから記録した。視床を刺激するとマトリックスの投射ニューロンに興奮性のEPSP(excitatory postsynaptic potential)を生じた。それに加え、ストリオソームの投射ニューロンEPSPを受けることを確認した。介在ニューロンであるコリン作動性ニューロンでは、視床刺激によりEPSPを生じ、それに引き続いて抑制性のIPSP(inhibitory postsynaptic potential)が見られた。このIPSPはGABA<sub>A</sub>受容体阻害薬で消失し、同時にニコチン受容体の活性化を必要とした。コリン作動性ニューロンの興奮によって放出されたアセチルコリンがGABA性ニューロンのニコチン受容体を活性化してGABA放出を誘発する「多シナプス性抑制性入力」であった。以前に、投射ニューロンも同様の抑制性入力を受けることを報告している(Miura 2006)。これらから、視床入力は、投射ニューロンに興奮性入力を直接送ると共に、コリン作動性ニューロンを介して線条体局所回路に影響を与えていることを示した。

(2) ストリオソームとマトリックスではコリンエステラーゼの発現量がことなるので、アセチルコリンの作用に違いがあるかを検討した。アセチルコリンはニコチン受容体とムスカリン受容体に作用する。ストリオソームの投射ニューロンは GABA 作動性である。μ オピオイド受容体を発現し、相互投射がある。μ オピオイド受容体刺激は GABA 性抑制性伝達を抑えるのだが、ムスカリン受容体刺激はこれと拮抗した。ストリオソームのコリン作動性ニューロンでのみ、μ オピオイド受容体作動薬 DAMGO (1 μM) は、GABA 性抑制性電流を抑制した。プロテインキナーゼ C(PKC)を活性化するホルボールエステル (phorbol 12, 13-dibutyrate, PDBu) はこの作用を阻害した(図2)。ムスカリニック M1 受容体拮抗薬 pirenzepine は増強した。オピオイドによる抑制性入力の減少(脱抑制)に、アセチルコリンが M1 受容体から PKC を介して拮抗することを示した。

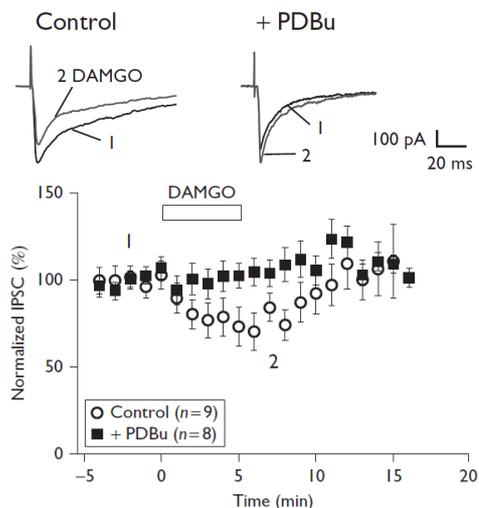


図2．ストリオソームの投射ニューロンへの GABA 性抑制性電流

マトリックスのコリン作動性ニューロンでは、ニコチン受容体依存性の「多シナプス性抑制性入力」が優位に多くみられた。この抑制性入力は、コリン作動性ニューロンの1発の活動電位によってでも誘発された。しかし頻回に誘発すると、数秒から数十秒の時間発生が見られなくなった。低濃度ニコチンや、ニコチン受容体作動薬によっても消失することから、ニコチン受容体の脱感作によるものと考えられた。

視床入力によりコリン作動性ニューロンが興奮すれば、アセチルコリンの放出も増減する。そしてコンパートメント特異的に、GABA 作動性である線条体の局所回路に影響を与えるであろうことが、興奮性の視床入力機能の一つと考えられる。

(3) 線条体の投射ニューロンでは持続的な tonic GABA 電流がみられる (Ade 2008)。持続的な抑制は作動性ニューロンの自発発火頻度を増減すると考えられる。投射ニュー

ロンでは tonic GABA 電流が明らかに認められ、GABA<sub>A</sub> 受容体 サブユニット特異的な作動薬 THIP によってさらに増強された。一方、コリン作動性ニューロンでは tonic GABA 電流の量は少なく、THIP による増強は全く見られなかった。しかし吸入麻酔薬 sevoflurane による増強はどちらのニューロンでも認められたので、tonic GABA 電流に係る GABA<sub>A</sub> 受容体サブユニットの違いが示唆された。

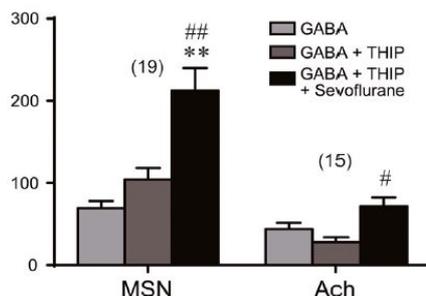


図3．線条体ニューロンの tonic GABA 電流 投射ニューロン (MSN) とコリン作動性ニューロンから記録した。

#### < 引用文献 >

- Minamimoto T, Hori Y, Kimura M (2005) *Science* 308:1798-1801.
- Graybiel AM, Pickel VM, Joh TH, Reis CW, Ragsdale CWjr (1981) *Proc Natl Acad Sci USA* 78: 5871-5875.
- Bernácer J, Prensa L, Giménez-Amaya JM. (2007) *PLoS One* 2: e1174.
- Van Vulpén EH, Van Der Kooy D. (1996) *J Comp Neurol* 365:683-91.
- Miura M, Saino-Saito S, Masuda M, Kobayashi K, Aosaki T (2007) *J Neurosci* 27:9721-9728.
- Smeal RM, Gaspar RC, Keefe KA, Wilcox KS (2007) *J Neurosci Methods* 159: 224-235.
- Matsushita N, Okada H, Yasoshima Y, Takahashi K, Kiuchi K, Kobayashi K (2002) *J Neurochem* 82: 295-304.
- Miura M, Ishii K, Aosaki T, Sumikawa K. (2006) *Neuroreport* 17:537-40.
- Ade KK, Janssen MJ, Ortinski PI, Vicini S. *J Neurosci* (2008) 28: 1185-1197.

#### 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 4件)

- Miyazaki H, Oyama F, Inoue R, Aosaki T, Abe T, Kiyonari H, Kino Y, Kurosawa M, Shimizu J, Ogiwara I, Yamakawa K, Koshimizu Y, Fujiyama F, Kaneko T, Shimizu H, Nagatomo K, Yamada K,

Shimogori T, Hattori N, Miura M, and Nukina N Singular localization of sodium channel  $\beta_4$  subunit in unmyelinated fibers and its role in striatum. Nat Comm, 査読有, 2014 Nov 21;5:5525. doi: 10.1038/ncomms6525.

Ando N, Sugasawa Y, Inoue R, Aosaki T, Miura M and Nishimura K. Effects of volatile anesthetic sevoflurane on tonic GABA currents in the mouse striatum during postnatal development. Eur J Neurosci, 査読有, 40 (8) : 3147-3157, 2014

Oose Y, Miura M, Inoue R, Andou N, Aosaki T and Nishimura K Imbalanced suppression of excitatory and inhibitory synaptic transmission onto mouse striatal projection neurons during induction of anesthesia with sevoflurane in vitro. Eur J Neurosci, 査読有, 35 (9) : 1396-1405, 2012.

Inoue R, Aosaki T and Miura M, Protein kinase C activity alters the effect of  $\mu$ -opioid receptors on inhibitory postsynaptic current in the striosomes. Neuroreport 査読有 23 (3):184-188, 2012

〔学会発表〕(計 13 件)

三浦正巳、井上律子、菅澤祐介、安藤望、西村欣也 マウス線条体ニューロンに対する吸入麻酔薬セボフルランの効果、第 9 2 回日本生理学会大会、2015.3.1、神戸国際会議場(兵庫・神戸)

井上律子、三浦正巳 ドーパミン受容体反復刺激により常同行動が誘発されたマウス線条体の解析 首都大バイオカンファレンス、2014.11.7、都大国際交流会館(東京・八王子)

安藤望、菅澤佑介、井上律子、青崎敏彦、三浦正巳、西村欣也 Tonic GABA 抑制と吸入麻酔薬、小児麻酔学会第 20 回大会、2014.9.22-23、ロイトン札幌(北海道・札幌)

井上律子、三浦正巳 マウス線条体における電位依存性ナトリウムチャンネル 4 サブユニットの電気生理学的性質 Electrophysiological properties of voltage-gated sodium channel 4 subunit in the mouse striatum. 第 3 7 回日本神経科学大会、パシフィコ横浜、2014.9.11-13.

井上律子、三浦正巳 常同行動を誘発するメタンフェタミン反復投与が線条体直接路投射ニューロンに及ぼす影響、第 3 7 回日本基礎老化学会、2014.6.26-27、あいち健康プラザ 健康科学館(愛知・大府)

Miura M, Masuda M, Inoue R, Imanishi M,

Saino-Saito S, Takada M, Kobayashi K, Aosaki T: A Physiological Approach to Tyrosine Hydroxylase-Positive Neurons in the Striatum. Korea-Japan Gerontologist Joint Symposium Meeting, 2014.6.20-21. Jeju (Korea)

井上律子、三浦正巳 線条体投射ニューロンの活動はメタンフェタミン反復投与によってどう変わるのか? 第 9 1 回日本生理学会大会、2014.3.16-18、鹿児島大学(鹿児島)

三浦正巳、大瀬善之、安藤望、井上律子、青崎敏彦、西村欣也 線条体における吸入麻酔薬の興奮作用 第 2 8 回日本大脳基底核研究会、2013.7.20-21、ラフォーレ修善寺(静岡・修善寺)

井上律子、青崎敏彦、三浦正巳 線条体ストリオソーム/マトリックスにおけるメタンフェタミン連続投与の影響、第 3 6 回日本神経科学大会、2013.6.20-23、国立京都国際会館(京都)

井上律子、青崎敏彦、三浦正巳 常同行動を誘発するメタンフェタミン慢性投与がマウス線条体に及ぼす影響 第 3 6 回日本基礎老化学会大会、2013.6.4-6、大阪国際会議場(大阪)

井上律子、三浦正巳、青崎敏彦 線条体の微小興奮性シナプス後電流におけるアンフェタミン投与の持続的効果 第 9 0 回日本生理学会大会、2013.3.27-29、タワーホール船堀(東京・江戸川区)

安藤望、大瀬義之、井上律子、三浦正巳、青崎敏彦、西村欣也 Tonic GABA 電流と脳発達期における吸入麻酔の影響 第 3 5 回日本神経科学大会、2012.9.18-21、名古屋国際会議場(愛知・名古屋)

青崎敏彦、三浦正巳、井上律子、大瀬義之、安藤望、西村欣也 吸入麻酔導入時に見られる興奮期の生理的機序 第 3 5 回日本基礎老化学会大会、2012.7.26-27、東邦大学(千葉・船橋)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.tmig.or.jp/ereseach/a34.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

三浦 正巳 (MIURA Masami)

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・研究副部長

研究者番号: 40291091

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし