

平成 30 年 6 月 22 日現在

機関番号：34310

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26350983

研究課題名(和文) 大脳皮質-大脳基底核投射から見た基底核神経回路の機能的並列性

研究課題名(英文) Parallel functional neural circuitry of the basal ganglia with regard to projection from cerebral cortex

研究代表者

苅部 冬紀 (Karube, Fuyuki)

同志社大学・研究開発推進機構・准教授

研究者番号：60312279

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：大脳基底核は運動や学習に重要な機能を持ち、様々な運動障害性疾患に関わっている。本研究では、大脳基底核への多様な入出力回路を詳細に研究し、次のような成果を得た。

基底核の一部である淡蒼球外節は、物質発現と電気生理学的性質から区別される主に三種類の細胞からなり、そのうち一種の細胞は、黒質のドーパミン細胞を抑制すること、ならびにサブスタンスP(神経修飾物質)により興奮することを見出した。また、淡蒼球外節には従来明らかでなかった大脳皮質からの直接投射があることを見出した。さらに、別の基底核である線条体の介在細胞の一種は運動性視床と皮質運動野から互いに異なる法則で興奮性入力を受けていることを発見した。

研究成果の概要(英文)：The basal ganglia are important on motor behavior and learning, and also relates to various movement disorders. In this study, we investigated input/output neural circuitry involved in the basal ganglia, cerebral cortex, and thalamus, and found new insights on possible functions of the basal ganglia.

On the external segment of globus pallidus (GPe), one of the relay nuclei of the basal ganglia, we found three main cell population distinguished by molecular expression profiles and electrophysiological properties. One type of them massively inhibited dopaminergic neurons in substantia nigra pars compacta, and also was excited by application of Substance P. We also found direct cortical excitation of GPe neurons. In the striatum, we found parvalbumin-expressing interneurons were innervated by both motor thalamic nuclei and motor cortex and the rules of these two excitatory innervation differed from each other.

研究分野：神経科学

キーワード：大脳基底核 大脳皮質 線条体 淡蒼球 シナプス

1. 研究開始当初の背景

大脳基底核は運動の制御や強化学習、報酬・価値の判断など幅広い機能に関わっており、パーキンソン病を始めとする運動障害との関係も深い。大脳皮質-大脳基底核-視床で構成される神経回路は、運動関連ループや情動関連ループなどの機能的に独立した並列なループ構造を形成していると考えられている。これらの回路において、並列ループ構造がどの程度分離あるいは統合されているかは、いまだに解明すべき点を多く残している。幅広い皮質領野や視床から投射を受ける基底核が、どのようにして情報の選択と統合を行い、最適な出力を適切に選択し、遂行しているかを明らかにすることは重要な課題である。マクロに見れば、この選択性は皮質視床下核投射や皮質および視床線条体と線条体淡蒼球外節、淡蒼球外節視床下核の投射のトポグラフィに依存すると考えられ、このレベルでの形態的な軸索分布についてもより詳細に調べる必要がある。また、視床下核と相互結合している淡蒼球外節は、線条体間接路細胞からの抑制を受けている。さらに、淡蒼球外節や視床下核細胞にも多様なタイプの投射細胞があることが徐々に明らかにされつつあり、細胞タイプに応じてどのような神経回路を持つかを明らかにすることは極めて重要である。

2. 研究の目的

本研究では直接路およびハイパー直接路としてダイレクトに大脳皮質からの興奮性入力を受ける線条体と視床下核やそれと深く関係する淡蒼球外節の神経回路について、ラットおよび遺伝子改変マウスを用いて、

(1) 単一視床下核細胞へ複数の皮質領野からの投射がどのように作用するか

(2) 皮質領野からの入力によって制御される線条体淡蒼球視床下核投射が同一もしくは異なる皮質領野からの皮質視床下核投射経路に与える影響を調べることにより、大脳皮質大脳基底核の機能的ループ構造の並列性と統合について検証すること

が当初の目的である。そのために、大脳皮質の異なる領野から単一の視床下核細胞への投射について、形態的・生理学的な性質を、主としてスライス標本と光遺伝学を利用して実験を行った。研究の過程で、淡蒼球外節について従来知られていなかった神経回路を次々と見出したため、実験後期は淡蒼球外節を中心とした神経回路の解明を中心的な目的とした。

3. 研究の方法

(1) 神経回路の可視化に先立ち、大脳基底核細胞の細胞タイプを以下の方法で同定した。

免疫組織化学

in vitro ホールセル記録による電気生理学的特徴

遺伝子改変動物による細胞タイプ特異的な遺伝子(緑色蛍光タンパク質または Cre)の発現)

(2) 神経回路の可視化

ビオチン化デキストランアミン(BDA)およびPHA-Lを順行性トレーサーとして用いた。ガラス管を引き伸ばして作成した微小管にトレーサーを吸引し、圧力もしくは電氣的に注入した。蛍光タンパク質やチャンネルロドプシンを発現するアデノ関連ウイルス(AAV)をベクタとして用い、順行性標識を行った。

逆行性トレーサーとして、コレラトキシンサブユニットB(CTB)やファーストブルー(FB)などを用いた。

(3) 上記のようなトレーサーやベクタを注入後、スライス標本を作成し、ホールセル記録法により細胞内記録を行った。この際、逆行性標識や順行性標識を観察し、特定のタイプの細胞に特定の神経核からの投射があるかについて、光遺伝学を用いて観察した。

(4) 共焦点顕微鏡によるシナプスの観察

順行性に標識された軸索終末と免疫組織化学等で標識したシナプス後部細胞、およびシナプス前・後部のマーカータンパク質の発現の共存について共焦点顕微鏡を用いて三次元的に観察した。

4. 研究成果

(1) 三種類の大脳皮質(一次運動野、二次運動野、前眼窩皮質)から大脳基底核への投射について、定量的に解析した。この結果、それぞれの脳領野から線条体・淡蒼球外節・視床下核に対して異なるパターンで投射することを見出した(学会発表1,2,6,7;論文投稿準備中)。

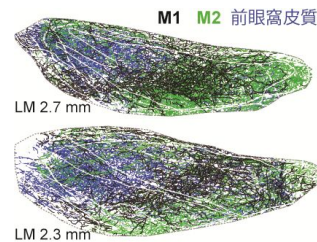


図1. 大脳皮質一次運動野(M1)、二次運動野(M2)、及び前眼窩皮質から視床下核へ投射する軸索の分布を色分けして示した。上は正中線から2.7mm側方、下は同じく2.3mm側方の切片からデータを取得した。

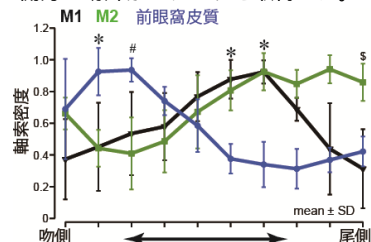


図2. 大脳皮質一次運動野(M1)、二次運動野(M2)、及び前眼窩皮質から視床下核へ投射する軸索の密度を吻側-尾側軸に沿って示した。有意差のある部位にマークを付けた。

(2) 線条体からの間接路投射を受ける淡蒼球外節の細胞は複数のサブタイプに分かれ、それぞれが異なる神経回路に関わることを見出した(雑誌論文 2, 3; 学会発表 3, 5)。パルプアルブミン発現細胞特異的に Cre を発現する遺伝子組換えラットと Cre 依存的に蛍光タンパクおよびチャネルロドプシンを発現する AAV ベクタを組み合わせ、淡蒼球外節の PV 細胞特異的な遺伝子導入を行った。その結果、淡蒼球外節 PV 細胞は、黒質緻密部腹側部のごく限定した領域に密な投射を行うことが分かった。これらの PV 終末を光刺激した所、この領域の黒質緻密部ドーパミン細胞から高い信頼性で抑制性シナプス電流が観察された。形態学的な観察では、黒質ドーパミン細胞の細胞体及び近位樹状突起に多数の抑制性シナプスが作られていた。これらのドーパミン細胞はカルシウム結合蛋白の一つであるカルピンディンを発現していないことが分かった。

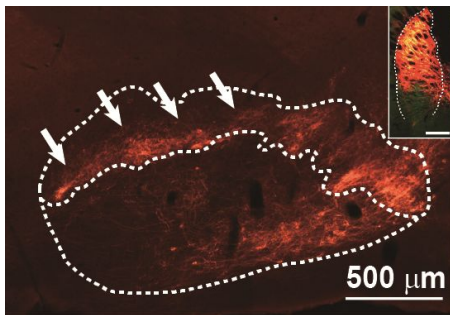


図 3. 淡蒼球外節パルプアルブミン細胞から黒質への投射。黒質緻密部の腹側に限局した投射(矢印)が見られる。右上は、淡蒼球外節のウイルスベクタ注入部位(スケールバーは 500 μm)。

(3) 線条体の直接路細胞はサブスタンス P (SP) を発現していることが知られているが、直接路細胞の投射する部位において SP の機能はよく分かっていない。近年の研究から、直接路細胞は間接路の一部である淡蒼球外節にも投射していることが分かったため、淡蒼球外節における SP 受容体の発現と SP の効果について研究した。その結果、SP 受容体は視床下核に投射するタイプの淡蒼球外節細胞で発現しており、脱分極性に作用することを見出した。

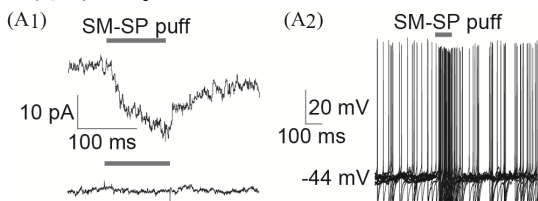


図 4. 淡蒼球外節細胞へのサブスタンス P (SM-SP) の影響。(A1) 上、SM-SP パフによる内向き興奮性電流が見られた細胞。下、約 3 割の細胞では興奮が見られなかった。(A2) SM-SP によって活動電位が誘発された細胞。

(4) 線条体の細胞は大脳皮質と視床から興奮性の投射を並列的に受けている。これらの興奮性入力については、線条体投射細胞では研究が進んでいるが線条体の抑制性介在細胞

への入力についてはまだよく分かっていない。そこで、PV 細胞特異的に GFP を発現する遺伝子改変マウスを用いて、皮質運動野および運動性視床からの興奮性入力について、免疫組織化学と組み合わせ、共焦点顕微鏡を用いて形態学的な定量解析を行った。その結果、入力の密度は皮質入力に視床入力に約 2 倍であること、視床入力は細胞体及び近位樹状突起に有意に多いこと、皮質入力は選択性無く、細胞体および樹状突起全域に渡って見られることを見出した(雑誌論文 1; 学会発表 4)。

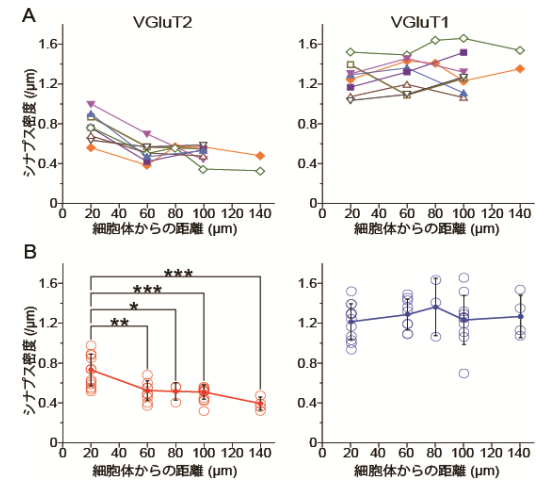


図 5. 線条体パルプアルブミン細胞への興奮性入力の密度。(A) 樹状突起に沿った興奮性シナプス密度の変化。左、視床由来の入力。右、皮質由来の入力。N=7。(B) 同じく全サンプルの平均興奮性シナプス密度。

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 5 件)

Nakano Y, Karube F., Hirai Y, Kobayashi K, Hioki H, Okamoto S, Kameda H, Fujiyama F. Parvalbumin-producing striatal interneurons receive excitatory inputs onto proximal dendrites from the motor thalamus in male mice. J Neurosci Research (Epub ahead of print on 4 Jan, 2018) DOI:10.1002/jnr.24214. 査読有り。

Substance P effects exclusively on prototypic neurons in mouse globus pallidus. Mizutani K., Takahashi S., Okamoto S., Karube F.*, Fujiyama F.*.(double correspondence). (2017) Brain Structure and Function. 222:4089-4110. DOI: 10.1007/s00429-017-1453-8. 査読有り。

Using a novel PV-Cre rat model to characterize pallidonigral cells and their terminations. Oh YM.#, Karube F.#, Takahashi S., Kobayashi K., Takada M., Uchigashima M., Watanabe M.,

Nishizawa K., Kobayashi K., Fujiyama F. (2017) (#, equally contributed). Brain Structure and Function. 222:2359-2378. (Epub ahead of print in 2016) DOI 10.1007/s00429-016-1346-2. 査読有り。

Neuronal circuits and physiological roles of the basal ganglia in terms of transmitters, receptors and related disorders. Yamada K., Takahashi S., Karube F., Fujiyama F., Kobayashi K., Nishi A., Momiyama T. (2016) J. Physiological Sciences. 66:435-446. DOI:10.1007/s12576-016-0445-4. 査読有り。

Morphological elucidation of basal ganglia circuits contributing reward prediction. Fujiyama F., Takahashi S., Karube F. (2015) Frontiers in Neuroscience 9:6 DOI: 10.3389/fnins.2015.00006. 査読有り。

[学会発表](計 18件)

Direct cortical innervation modulates excitability of globus pallidus neurons in rodents. Karube F., Fujiyama F. 第123回日本解剖学会全国学術集会。2018年3月(東京)。 Morphological and electrophysiological evaluation of cortico-pallidal pathway in rodent. Karube F., Takahashi S., Fujiyama F. XXIII World Congress of Neurology 2017, Sep 16-21, Kyoto.

PV-Cre ラットモデルを用いた淡蒼球外節細胞の黒質ドーパミン細胞への抑制性入力の解明。 呉胤美, 苅部冬紀, 高橋晋, 小林憲太, 小林和人, 藤山文乃。第40回日本神経科学大会、2017年7月(幕張)。ポスター発表。

視床・大脳皮質運動野の線条体パルプアルブミン発現介在ニューロンへの投射。 中野泰岳, 苅部冬紀, 藤山文乃。第40回日本神経科学大会、2017年7月(幕張)。ポスター発表。

サブスタンス P はマウス淡蒼球外節の Prototypic neurons へ特異的に影響を及ぼす。 水谷和子, 高橋晋, 岡本慎一郎, 苅部冬紀, 藤山文乃。第40回日本神経科学大会、2017年7月(幕張)。ポスター発表。

The micro-circuitry of the basal ganglia in relation to cortical innervation. 8. Karube F. NIPS International Workshop “A Quarter Century after the Direct and Indirect Pathways Model of the Basal Ganglia and Beyond.”、2014年9月(岡崎)。招待講演。

Anatomical aspect of the basal ganglia

circuitry, in relation to cortical projection. Karube F. and Fujiyama F. 第37回日本神経科学大会シンポジウム “Quarter Century after the Direct and Indirect Pathways: Towards Comprehensive Understandings of the Basal Ganglia”、2014年9月(横浜)。招待講演。

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

苅部冬紀 (KARUBE Fuyuki)
同志社大学・研究開発推進機構・特任准教授
研究者番号: 60312279

(2) 研究分担者

高橋晋 (TAKAHASHI Susumu)
同志社大学・脳科学研究科・教授
研究者番号: 20510960

(3) 連携研究者

藤山文乃 (FUJIYAMA Fumino)
同志社大学・脳科学研究科・教授
研究者番号: 20244022

(4) 研究協力者

()