

新潟大学脳研究所
「脳神経病理資源活用の疾患病態共同研究拠点」
共同利用・共同研究報告書

大脳基底核神経活動へのドーパミンの作用

研究代表者 小山内 実 1) 2) 3) 4)
研究分担者 笹岡 俊邦 5)

- 1) 大阪大学大学院医学系研究科 2) 大阪大学大学院生命機能研究科
3) 東北大学大学院医学系研究科 4) 情報通信研究機構・大阪大学 脳情報通信融合研究センター
5) 新潟大学脳研究所

研究要旨

脳は複雑な階層構造を成しているため、動作原理を理解するためには、多階層に渡るマルチスケール計測が必要である。そこで、MRI による全脳神経活動計測と、光学 Ca^{2+} イメージングを組み合わせた、マルチスケールイメージングにより、大脳基底核神経活動へのドーパミンの作用の解明を目指した。in vitro 神経活動計測としての Ca^{2+} イメージングにより、ドーパミンあるいは D1 受容体アゴニストが皮質からの入力に対する D1-MSN の応答を低下させることが分かった。D1 受容体のノックダウンでは、運動機能の低下が見られたが、定量的活動依存性マンガン造影 MRI による全脳神経活動履歴計測を行ったところ、D1 受容体ノックダウンにより、神経活動が低下する脳領域と亢進する脳領域が観察された。これらの研究により、大脳基底核におけるドーパミンの作用を精査した。

A. 研究目的

大脳基底核線条体におけるドーパミンの枯渇により、パーキンソン病が発症することから、ドーパミン受容体は大脳基底核の機能発現に重要な役割を果たしている。このドーパミンの機能を明らかにするために、線条体の投射ニューロンである、直接路ニューロン (D1-MSN) 及び間接路ニューロン (D2-MSN) の神経活動に対するドーパミンの作用を明らかにする。また、in vivo でのドーパミン D1 受容体の機能を明らかにするために、D1 受容体のコンディショナルノックダウンマウス (D1RKD マウス)、を用い、全脳神経活動計測および、運動機能試験を行う。これらの研究により、大脳基底核の機能発現に対するドーパミンの役割の解明を目指す。

B. 研究方法 (倫理面への配慮を含む)

本研究は大阪大学遺伝子組換え実験安全委員会、大阪大学大学院医学系研究科保健学専攻動物

実験委員会、東北大学遺伝子組換え実験安全専門委員会、東北大学動物実験委員会の許可を得て行った。

(1) D1-MSN 及び D2-MSN の神経活動に対するドーパミンの作用

D1-MSN に YFP を発現している Drd1-YFP マウス及び D2-MSN に YFP を発現している Drd2-YFP マウスの急性脳スライス標本作製し、皮質-線条体路刺激により惹起される線条体投射ニューロンの神経活動を、 Ca^{2+} 感受性蛍光色素 Fura-2 LR を用いた Ca^{2+} イメージング法により計測した。

また、新潟大学脳研究所から譲受頂いた D2-iCre マウスと floxed-G-CaMP8.5 を交配することで D2-MSN に G-CaMP8.5 を発現させ、Fura-2 LR との差異を検討した。

(2) D1 受容体ノックダウンによる行動異常及び全脳神経活動の変化

新潟大学脳研究所から譲受頂いた D1 ドーパミン受容体ノックダウンマウスに対して、ドキシサイクリン(Dox) 投与前、投与 3 週間後に、行動実験及び、定量的活動依存性マンガン造影 MRI (qAIM-MRI) による全脳神経活動計測を行った。qAIM-MRI の解析では、脳地図との位置合わせを行うためのソフトウェア ANTx2 (Koch et al., JCBFM, 2017) を用い、Hikishima らが作成した Allen brain atlas と位置合わせ済みのマウス脳テンプレート画像を用いて (Hikishima et al., Sci Rep 2017)、神経活動に変化が起こった領域を明確にした。

行動実験では、協調運動テストとして、ローターロードテスト、ビームウォークテスト、ポールテストを行い、無動のテストとして、カタレプシーテストを行った。

C. 研究結果

(1) D1-MSN 及び D2-MSN の神経活動に対するドーパミンの作用

Drd1-YFP マウス及び Drd2-YFP マウスの急性線条体脳スライス標本の皮質-線条体路に様々な周波数の電気刺激を与え、シナプス後細胞である D1-MSN と D2-MSN の神経活動を Ca^{2+} イメージングにより計測した。ドーパミンを投与したところ、D1-MSN、D2-MSN の両方で有意に神経活動が低下した。D1 受容体のアゴニストあるいは D2 受容体のアゴニストの投与でも同様に D1-MSN あるいは D2-MSN の神経活動は低下した。

D2-MSN に G-CaMP8.5 を発現するマウスの線条体脳スライス標本を用いて、上記と同様の実験を行った結果、D2 ニューロンの神経活動計測を行うことができた。また、従来用いていた Fura-2 LR と G-CaMP8.5 の応答特性を比較した結果、G-CaMP8.5 の方が感度は高いが強い入力に対してサチュレーションしやすいことが明らかとなった。

(2) D1 受容体ノックダウンによる行動異常及び全脳神経活動の変化

D1 ノックダウンマウスにおいて、Dox 投与 1 週間後の神経活動と投与前とを比較したところ、複数の脳領域で神経活動の低下が観察され、一部の脳領域で神経活動の亢進が観察された。Dox

投与 3 週間後には、さらに様々な領域で神経活動の低下及び亢進が観察されたが、特に扁桃体などの負の情動に関与すると言われている領域で神経活動が亢進していた。

行動実験では、Dox 投与 3 週間後で、いずれの運動機能試験でも成績が低下していた。カタレプシーテストでも同様に、Dox 投与 3 週間後に無動時間の有意な延長が確認された。

D. 考察

(1) D1-MSN 及び D2-MSN の神経活動に対するドーパミンの作用

急性脳スライス標本に対する Ca^{2+} イメージングにより、ドーパミンが D1 受容体を介して D1-MSN の入力応答性を低下させることが分かった。この結果、ドーパミンが D1-MSN の活動を亢進させる、という従来の説とは異なる。その理由について、今後更なる検討が必要である。

(2) D1 受容体ノックダウンによる行動異常及び全脳神経活動の変化

行動実験の結果から、D1 受容体ノックダウンにより運動機能の低下が起こることが明らかとなった。一方、qAIM-MRI による全脳神経活動履歴計測の結果から、D1 受容体ノックダウンにより、中隔核、扁桃体などの辺縁系の神経活動が亢進していたが、複数の領域で神経活動の低下も見られた。これらの結果をさらに精査し、D1 受容体の機能について更なる検討を行う必要がある。

E. 結論

Ca^{2+} イメージング法により、D1-MSN 及び D2-MSN の皮質からの入力による神経応答に対するドーパミンの作用を計測することに成功した。

D1 受容体ノックダウンにより、運動機能の低下が見られた。また D1 受容体ノックダウンにより、脳の様々な領域で神経活動が低下あるいは亢進することが分かった。

F. 研究発表 (上記課題名に関するもの)

1. 論文発表

1. Isumi S, Futamura D, Hanasaki T, Sako Y, Miyata S, Kan H, Suzuki Y, Hasegawa N, Mushiake H, Kametaka S, Uchiyama Y, Osanai M, Lee-Hotta S. Association of

medullary reticular formation ventral part with spasticity in mice suffering from photothrombotic stroke. Neuroimage 298: 120791, 2024.

2. 小山内 実. 定量的活動依存性マンガン造影 MRI の原理とその応用. BRAIN and NERVE 76(7): 827-834, 2024.

2. 学会発表

1. 安藤 真実, 藤江 春花, 末岡 知己, 田村 篤史, 小林 和人, 小山内 実. ドーパミンと D1 アゴニストは Ca^{2+} イメージングで計測された直接路ニューロンの神経活動を減弱した. 第 47 回日本神経科学大会 (NEURO2024), 福岡, 2024/7/24-27.
2. 藤江 春花, 安藤 真実, 末岡 知己, 田村 篤史, 小林 和人, 小山内 実. 大脳基底核線条体の直接路・間接路ニューロンの活動に対するサイクリックヌクレオチドの影響. 第 47 回日本神経科学大会 (NEURO2024), 福岡, 2024/7/24-27.
3. 古澤 唯夏, 上村 優輝, 西澤 佳代, 松下 知佳, 圓見 純一郎, 田村 篤史, 吉岡 芳親, 小林 和人, 小山内 実. 自由行動時と運動時の神経活動の変化は健常とパーキンソン病とで異なる. 第 47 回日本神経科学大会 (NEURO2024), 福岡, 2024/7/24-27.
4. 小山内 実. 大脳基底核神経回路モデル再構築の試み. 第 26 回活性アミンに関するワークショップ. 名古屋, 2024/8/24.
5. 藤江 春花, 安藤 真実, 末岡 知己, 田村 篤史, 小林 和人, 小山内 実. 大脳基底核線条体投射ニューロンの活動に対するサイクリックヌクレオチド信号伝達的作用. 先端モデル動物支援プラットフォーム 2024 年度 若手技術支援講習会, 名古屋, 2024/8/29-31.
6. 安藤 真実, 藤江 春花, 末岡 知己, 田村 篤史, 小林 和人, 小山内 実. 皮質からの入力により惹起された線条体投

射ニューロンの神経活動に対するドーパミン及びドーパミン受容体作動薬的作用. 先端モデル動物支援プラットフォーム 2024 年度 若手技術支援講習会, 名古屋, 2024/8/29-31.

7. 米田 紅音, 安藤 真実, 藤江 春花, 末岡 知己, 田村 篤史, 小林 和人, 小山内 実. 線条体投射ニューロンの入出力特性に対するドーパミン的作用. 2024 年電気学会 電子・情報・システム部門大会, 東大阪, 2024/9/4-7.
8. 関本 麻衣, 長谷川 直樹, 谷平 大樹, 佐野 裕実, 上村 優輝, 松下 知佳, 大城 朝一, 南部 篤, 虫明 元, 小山内 実. 定量的活動依存性マンガン造影 MRI の妥当性の検証とその最適化. 2024 年電気学会 電子・情報・システム部門大会, 東大阪, 2024/9/4-7.
9. 安藤 真実, 米田 紅音, 藤江 春花, 末岡 知己, 田村 篤史, 小林 和人, 小山内 実. 大脳基底核線条体投射ニューロンにおけるドーパミン受容体活性化の作用. 第 116 回 近畿生理学談話会, 大阪, 2024/11/23.
10. 関本 麻衣, 谷平 大樹, 古澤 唯夏, 稲垣 良, 菊田 里美, 南部 篤, 笹岡 俊邦, 小山内 実. 全脳神経活動及び運動機能に対するドーパミン D1 受容体の役割. 第 116 回 近畿生理学談話会, 大阪, 2024/11/23.
11. 古澤 唯夏, 上村 優輝, 西澤 佳代, 松下 知佳, 圓見 純一郎, 田村 篤史, 吉岡 芳親, 小林 和人, 小山内 実. 健常動物とパーキンソン病モデルにおける協調運動時の神経活動の違い. 第 116 回 近畿生理学談話会, 大阪, 2024/11/23.
12. 小山内 実. 大脳基底核神経活動へのドーパミン的作用. 2024 年度 脳研共同利用共同研究 笹岡班 合同セミナー, 新潟, 2024/12/26.
13. 古澤 唯夏, 上村 優輝, 西澤 佳代, 松下 知佳, 圓見 純一郎, 田村 篤史, 吉岡 芳親, 小林 和人, 小山内 実. 協調運動時に活動する脳領域は、健常動物と

- パーキンソン病モデル動物とで異なる.
APPW2025 (第 130 回日本解剖学会/第 102 回日本生理学会/第 98 回日本薬理学会合同大会), 千葉, 2025/3/17-19.
14. 安藤 真実, 藤江 春花, 米田 紅音, 末岡 知己, 田村 篤史, 小林 和人, 小山内 実. 線状体投射ニューロンの活動に対するドーパミン受容体活性化の効果. APPW2025 (第 130 回日本解剖学会/第 102 回日本生理学会/第 98 回日本薬理学会合同大会), 千葉, 2025/3/17-19.
15. 古澤 唯夏, 上村 優輝, 西澤 佳代, 松下 知佳, 圓見 純一郎, 田村 篤史, 吉岡 芳親, 小林 和人, 小山内 実. 定量的活動依存性マンガン造影 MRI (qAIM-MRI) による協調運動時の健常マウスとパーキンソン病モデルマウスの全脳神経活動の可視化. 令和 6 年度大脳基底核機能研究会, 池田, 2025/3/28-29.
16. 安藤 真実, 藤江 春花, 末岡 知己, 田村 篤史, 小林 和人, 小山内 実. 線状体投射ニューロンの神経活動に対するドーパミン及び cAMP 濃度上昇の影響. 令和 6 年度大脳基底核機能研究会, 池田, 2025/3/28-29.
17. 小山内 実. 大脳基底核機能発現メカニズムの解明に向けたマルチスケールイメージング. 令和 6 年度大脳基底核機能研究会, 池田, 2025/3/28-29.

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 芳賀洋一、鶴岡典子、竹谷航大、堺 義暁、小山内実 (出願人: 国立大学法人東北大学、国立大学法人大阪大学). 伝達体デバイスの製造方法及び伝達体デバイス. 出願番号: 特願 2024-200146, 出願日: 2024/11/15, 国内出願
2. 駒田 大輔, 小山内 実 (出願人: 京セラ株式会社 谷本 秀夫, 大阪大学 西尾章治郎). 生体用チューブおよび生体測定装置. 特許登録 7489072, 2024/5/15