

平成 21 年 6 月 1 日現在

研究種目：若手研究 (B)
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19700361
 研究課題名 (和文) GABAB 受容体を介した上丘ニューロンのバースト発火終了機構の解明
 研究課題名 (英文) Regulation of burst activity through GABAB receptors in mouse superior colliculus
 研究代表者
 金田 勝幸 (KANEDA KATSUYUKI)
 生理学研究所・発達生理学研究室・助教
 研究者番号：30421366

研究成果の概要：中脳に位置する上丘は、興味の対象にすばやく視線を向ける眼球サッケード運動制御の中枢である。本研究ではマウスのスライス標本を用いてサッケード運動に先行して生成される上丘ニューロンのバースト発火がどのように終了するのかについて解析し、GABAB受容体が重要な役割を果たしていることを明らかにした。この結果は、眼球運動が適切に終了するためにはGABAB受容体の機能が重要であることを示唆している。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,300,000	0	2,300,000
2008年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	240,000	3,340,000

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：上丘、バースト発火、サッケード、GABA 作動性ニューロン、GABAB 受容体、局所神経回路

1. 研究開始当初の背景

中脳上丘は注意の対象に眼球をすばやく動かすサッケード運動の制御に重要である。サルを用いた研究から、サッケードの開始には上丘中間層ニューロンが黒質網様部からのGABA_A受容体を介した持続的な抑制から解除され、バースト発火をする必要があることが明らかにされてきた。一方、サル上丘の電気刺激の刺激時間がサッケードの持続時間に対応しているという知見は、バースト発火はサッケードの開始のみでなく、その持続時

間サッケードの持続時間の制御、すなわち、正確にサッケードを停止させる上でも重要であることを示唆している。上丘ニューロンのバースト発火を適切に終了させる機構を説明するために、脳幹・小脳に存在すると想定される神経積分器を介するフィードバックモデルが提唱されている。一方で、上丘局所回路内でバースト発火をフィードバックにより適切に終了させる機構はバースト発火のおおよその持続時間を決定していると推定され、正確なサッケードを実現する上で、

脳幹・小脳からのフィードバック制御と相補的に機能している可能性がある。しかし、そのような機構が上丘局所回路に内在するのか、また内在するならば、どのような機序によるのかは明らかではなかった。

2. 研究の目的

本研究では、上丘局所神経回路におけるバースト発火終了の制御機構をスライス標本を用いて明らかにすることを目的とする。上丘にはグルタミン酸作動性ニューロンの他に様々なタイプのGABA作動性ニューロンが存在するので、これらのGABA作動性ニューロンが局所回路の興奮性を、さらには、バースト発火の開始と終了を制御している可能性が考えられる。このことは、申請者の所属する研究室のラット脳スライス標本を用いた研究で、GABA_A受容体をブロックするとNMDA受容体依存的に上丘浅層から中間層へ興奮性活動が伝播しやすくなり、さらに、*in vivo*で観察されるような中間層細胞集団での同期的なバースト発火が再現されるという事実からも支持される。GABA作動性ニューロンのバースト発火制御における役割をさらに追究する上で、申請者はバースト発火が上丘の細胞集団で誘発されることに着目し、具体的には以下の5つの点を明らかにすることを目指す。

(1) GABA_B受容体アンタゴニストの作用はGABA作動性ニューロンのバースト発火により遊離されたGABAによるGABA_B受容体の活性化をブロックしたものなのか、あるいは持続的に遊離されているGABAの作用をブロックした結果なのか

(2) GABA_B受容体のアンタゴニストの効果は上丘局所回路内のどこで、すなわち、浅層あるいは中間層、あるいは両層で作用した結果なのか

(3) GABA_B受容体アンタゴニストの作用部位はシナプス後膜なのかシナプス前終末なのか

(4) シナプス後膜に作用するとすればGABA_B受容体刺激により惹起されるslow IPSPをブロックすることによるのか、あるいは細胞内セカンドメッセンジャーを介した他のメカニズム、たとえばCa²⁺チャンネルの抑制をブロックすることによるのか

(5) シナプス前終末だとすればグルタミン酸作動性神経終末からの伝達物質放出抑制をブロックすることによるのか

3. 研究の方法

GAD67-GFP knock-in mouseから上丘を含むスライス標本を作製しパッチクランプ記録を行う。このマウスでは蛍光顕微鏡観察下でGABA作動性ニューロンがGFP蛍光を発するため、記録しようとするニューロンがGABA作動

性なのかグルタミン酸作動性なのかを知ることができる。これまでの予備的研究から、GABA_A受容体アンタゴニストのgabazineをバス適用すると上丘浅層の単発電気刺激により中間層グルタミン酸作動性ニューロンにおいてバーストEPSCsが誘発されること、また、GABA_B受容体アンタゴニストであるCGP52432（以下CGP）を追加適用すると、バーストEPSCsのピークの振幅にはほとんど影響を与えずに潜時100 ms付近から振幅の減衰速度を低下させ、その結果、持続時間を顕著に増大させるという知見を得ている。しかし、その作用機序は不明である。このようなGABA_B受容体アンタゴニストの効果はGABA_B受容体をブロックすることにより発現しているので、GABA_B受容体活性化が上丘局所回路内のどこで、どのような作用を誘発しうのかを明らかにすれば、GABA_B受容体アンタゴニストによるバーストEPSCsの持続時間増大の機序が明らかになると考えられる。

4. 研究成果

(1) GABA_A受容体拮抗薬gabazineの存在下、上丘浅層を電気刺激すると中間層non-GABAニューロンでバースト発火が誘発された。GABA_B受容体拮抗薬のCGP52432 (CGP) を追加すると、バースト発火の持続時間は顕著に増大した (図1参照)。

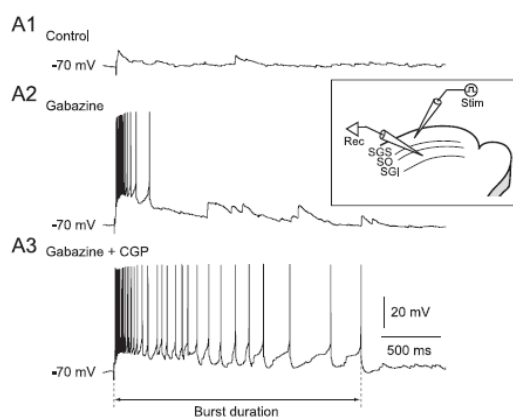


図1

(2) CGPを浅層に局所投与しても同様のバースト延長効果が観察され (図2参照)、

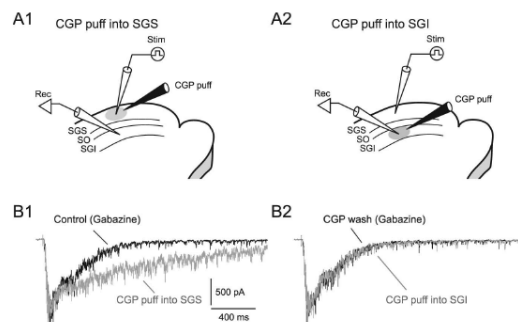


図2

gabazine存在下ではGABAニューロンもバースト発火を示すこと(図3参照)から、以上の結果は、浅層のGABA_B受容体がシナプスから遊離されたGABAにより活性化されるとバースト発火の持続時間を制限する機能を持つことを示唆している。

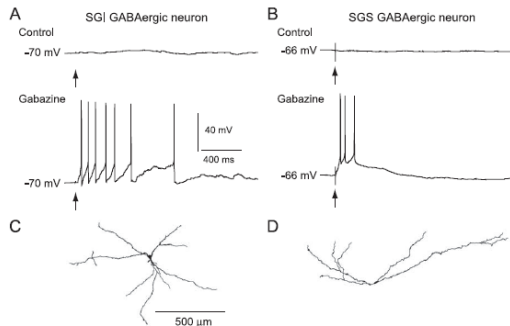


図3

(3) 浅層に存在するnarrow field vertical cellでは局所の連続電気刺激によりCGP-sensitiveな外向き電流が誘発され(図4参照)、wide field vertical cellでは遠位樹状突起へのグルタミン酸パフ適用で誘発される脱分極がGABA_B受容体作動薬のパフ適用によってshunt効果で抑制された(図5参照)。

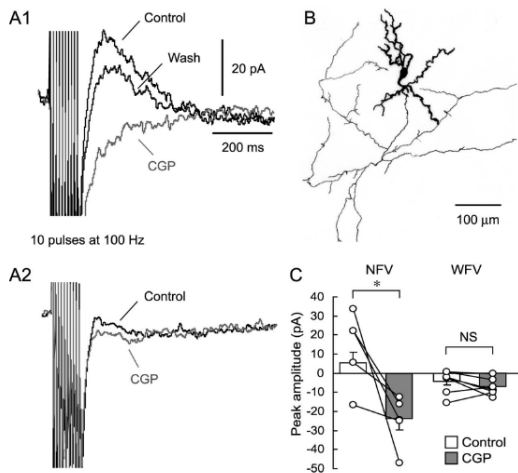


図4

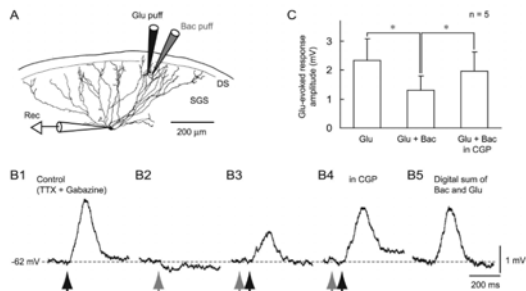


図5

(4) さらに、浅層non-GABAニューロンにおいて局所連続刺激後に誘発されるEPSCsの振幅は減弱し、この減弱はCGPにより回復したことから、連続刺激により遊離されたGABAがグルタミン酸神経終末に存在するGABA_B受容体に作用すると、グルタミン酸の遊離を抑制することが分かった(図6参照)。

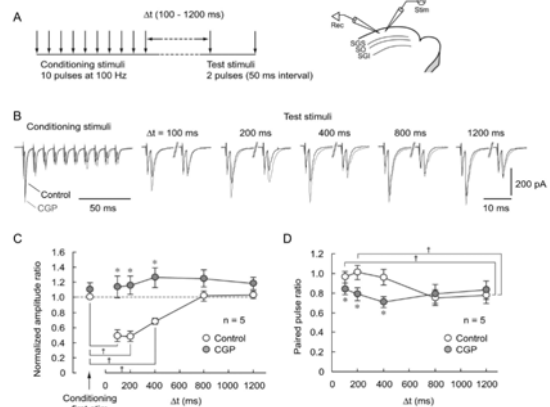


図6

(5) また、NMDA受容体阻害薬の浅層への局所投与は浅層のみでなく中間層のバースト発火も抑制したことから、中間層のバースト発火生成には浅層のバースト発火が必要であることが分かった(図7参照)。

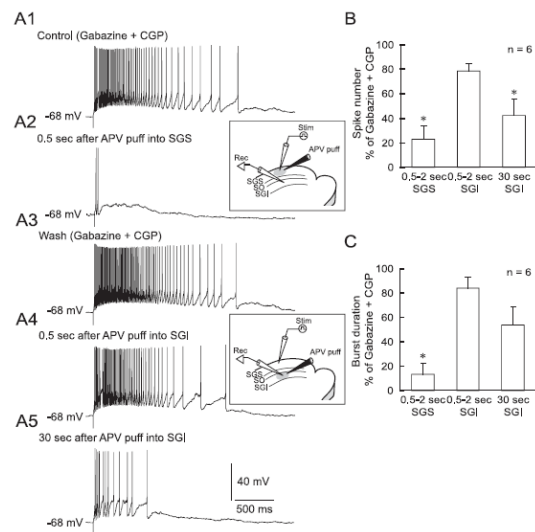


図7

以上の結果は、浅層のGABA_B受容体は上丘局所回路でのバースト発火の持続時間を制限し、サッケードを適切に終了させる上で重要な役割を果たす可能性を示している。

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 3 件)

- ① Kaneda K, Phongphanphanee P, Katoh T, Isa K, Yanagawa Y, Obata K, Isa T. Regulation of burst activity through presynaptic and postsynaptic GABA_B receptors in mouse superior colliculus. J Neurosci. 28(4):816-27, 2008. 査読あり
- ② Phongphanphanee P, Kaneda K, Isa T. Spatiotemporal profiles of field potentials in mouse superior colliculus analyzed by multichannel recording. J Neurosci. 28(37):9309-18, 2008. 査読あり
- ③ Kaneda K, Isa K, Yanagawa Y, Isa T. Nigral inhibition of GABAergic neurons in mouse superior colliculus. J Neurosci. 28(43):11071-8, 2008. 査読あり

[学会発表] (計 3 件)

- ① 金田 勝幸、GABA_B receptor-mediated inhibition of burst activities in mouse superior colliculus in vitro. 第 32 回北米神経科学学会、2007 年 11 月 3-7 日、サンディエゴ、米国
- ② 金田 勝幸、Mechanisms of GABA_B receptor-mediated inhibition of burst activities in mouse superior colliculus. 第 30 回日本神経科学大会、2007 年 9 月 10-12 日、横浜
- ③ 金田 勝幸、GABA_B receptor-mediated feedback inhibition of burst firings in the superior colliculus. 第 84 回日本生理学会大会、2007 年 3 月 20-22 日、大阪

[図書] (計 1 件)

- ① 金田 勝幸、伊佐 正. 「見たいものに視線をとめる役割をGABAがになう？」 オーム社、メディカルバイオ、5: 16-17. 2008.

[その他]

ホームページ:

<http://www.nips.ac.jp/hbfp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

金田 勝幸 (KANEDA KATSUYUKI)

生理学研究所・発達生理学研究系・助教

研究者番号: 30421366