

氏名	かねこ さとし 金 子 鋭
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	論 医 博 第 1730 号
学位授与の日付	平 成 12 年 11 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	Synaptic Integration Mediated by Striatal Cholinergic Interneurons in Basal Ganglia Function (線条体コリン作働性インターニューロンによる基底核神経回路の調節)
論文調査委員	(主 査) 教 授 柴 崎 浩 教 授 金 子 武 嗣 教 授 中 西 重 忠

### 論 文 内 容 の 要 旨

大脳基底核(線条体, 淡蒼球, 視床下核, 黒質)は運動の制御に重要であり, 大脳皮質から入力を受け, 視床を介して大脳皮質に出力する神経回路を形成している。大脳皮質から大脳基底核への入力は線条体に入る。線条体からの出力は2種類の中型有神経細胞に大別され, 淡蒼球と視床下核を介して黒質網様部へ投射する間接路と, 黒質網様部へ直接投射する直接路とがある。直接路・間接路の出力のバランスは黒質緻密部から線条体へのドーパミン作働性ニューロンや線条体内のアセチルコリン作働性インターニューロンによって調節されており, この制御は多動か寡動かといった行動の変化をもたらしている。黒質からのドーパミン作働性ニューロンが脱落するパーキンソン病では間接路が優位になり, 固縮や動作緩慢などの運動障害をきたす。ドーパミン作働薬やアセチルコリン拮抗薬がパーキンソン病の症状を改善することから, 線条体においてはドーパミンとアセチルコリンとは拮抗的に働いていると考えられてきた。

ドーパミン作働性ニューロンの機能は6-OHDAを用いた破壊実験や遺伝子破壊マウスの研究によってこれまでよく解析されてきたのに対して, 線条体コリン作働性インターニューロンの機能はなお多くの点が不明である。

線条体コリン作働性インターニューロンには代謝型グルタミン酸受容体2型(mGluR2)が発現していることが知られている。mGluR2のプロモーター領域にヒトインターロイキン受容体2型の $\alpha$ 鎖(hIL2 $\alpha$ )とクラゲ由来の緑色蛍光蛋白(GFP)の遺伝子を連結したトランスジーンを導入したトランスジェニックマウスでは, 本来mGluR2を発現している神経細胞のみこのプロモーターが働きhIL2 $\alpha$ とGFPが発現する。イムノトキシン(緑膿菌の菌体外毒素と抗hIL2 $\alpha$ 抗体を結合したもの)を投与するとhIL2 $\alpha$ を発現している神経細胞にのみ取り込まれ, その細胞を選択的に破壊することができる。またGFPは発現している細胞を蛍光下で可視化するのに有効である。

このトランスジェニックマウスを用いて以下の結果を得た。

1. トランスジェニックマウスの線条体コリン作働性インターニューロンにGFPの発現を確認し, イムノトキシン投与によりこれを選択的に破壊する細胞標的破壊法を確立した。
2. 破壊の効果はコリンアセチルトランスフェラーゼの免疫染色とアセチルコリンの定量により確認した。
3. 線条体へのイムノトキシン投与は, ドーパミン代謝や他の線条体インターニューロンへの影響がなかった。
4. 一側の線条体コリン作働性インターニューロンの破壊により, 非破壊側への回転運動がみられた。これは直接路と間接路の活動性のバランスの変化を反映していると考えられた。
5. 線条体でのエンケファリン(Enk)とサブスタンスP(SP)のmRNAの発現は, それぞれ間接路・直接路の活動性の指標となる。コリン作働性インターニューロンを破壊した結果, Enkは低下し, SPは上昇しており, 破壊側線条体では間接路が抑制され, 直接路が活性化されていることが裏付けられた。
6. 行動やmRNA発現の変化はコリン作働性インターニューロン破壊後の急性期に限って観察され, 慢性期には消失した。オートラジオグラフィーにより慢性期にはD1およびD2型のドーパミン受容体が減少していることが明らかになり, 代償機構のひとつと考えられた。

7. 線条体においてアセチルコリンはドーパミンと拮抗的に働いていることを証明した。
8. 局所の神経回路内では、神経伝達物質の異なるシナプス同士でも代償機構が働くことが示された。

#### 論文審査の結果の要旨

本研究は組換え遺伝子導入マウスを用いて、線条体アセチルコリン (ACh) 作働性インターニューロンによる大脳基底核神経回路の調節を明らかにしようとしたものである。

線条体 ACh 作働性インターニューロン特異的にヒトインターロイキン 2 型受容体 (hIL2 $\alpha$ ) を発現している組換え遺伝子導入マウスを用いて、hIL2 $\alpha$  に特異的なイムノトキシンを投与することにより、マウス成熟個体から選択的に線条体 ACh 作働性インターニューロンを除去する実験系を確立した。一側の線条体 ACh 作働性インターニューロンの破壊により非破壊側への回転行動がみられた。さらに破壊側線条体ではエンケファリン mRNA の低下とサブスタンス P mRNA の上昇を認めた。これらの結果から ACh 作働性インターニューロンの破壊により、線条体の 2 つの出力系 (直接路・間接路) のうち直接路が優位になっていることを示した。

行動や mRNA 発現の変化は破壊後の急性期にのみ観察され、慢性期には消失した。急性期、慢性期ともに線条体のドーパミン代謝には変化なかったが、慢性期には線条体の D1 および D2 型ドーパミン受容体が減少しており、これが代償機構のひとつと考えられた。

以上の研究は、線条体の出力の調節にアセチルコリンとドーパミンが拮抗して働き、互いに代償する可塑性を持つことを明らかにしており、パーキンソン病等の基底核神経疾患の病態解明に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。なお、本学位授与申請者は、平成12年10月5日実施の論文内容とそれに関する試問をうけ、合格と認められたものである。