

線条体における入力タイミングに 依存するカルシウム応答モデル

中野 高志^{†1,†2} 吉本 潤一郎^{†2,†1}
Jeff Wickens^{†2} 銅谷 賢治^{†2,†1}

線条体は脳基底核の入力部であり、皮質からグルタミン酸、黒質からドーパミンの投射を受けている。それらの入力から引き起こされるカルシウム変化およびドーパミン強度自身によって皮質線条体間のシナプス強度が変化することが報告されているが、その入力タイミングの依存性についてはまだほとんど分かっていない。線条体シナプスのタイミング依存可塑性の背後にあるカルシウム変化のメカニズムを明確にするために、現実的な形態を備えた線条体ニューロンモデルを構築し、スパイクタイミングに依存する細胞内カルシウム濃度変化をシミュレーションにより調べた。その結果、up-state のときにグルタミン酸またはドーパミン入力の後シナプススパイクよりも先行すると最もカルシウム応答が大きくなることが予測された。

Calcium response model to timed inputs in the striatum

TAKASHI NAKANO,^{†1,†2} JUNICHIRO YOSHIMOTO,^{†2,†1}
JEFF WICKENS^{†2} and KENJI DOYA^{†2,†1}

The striatum, the input nucleus of the basal ganglia, receives glutamate input from the cortex and dopamine input from the substantia nigra. Recently, several studies reported contradictory results on the dependence of the striatal synaptic plasticity on the timing of cortical input, dopamine input, and the spike output. To clarify the mechanisms behind spike timing-dependent plasticity of striatal synapses, we investigated the spike timing-dependence of intracellular calcium concentration by constructing a striatal neuron model with a realistic morphology. Our simulation predicted that the calcium transient is maximal when cortical spike input and dopamine input preceded the postsynaptic spike. The gain of the calcium transient is enhanced during the "up-state" of striatal cells.

1. はじめに

線条体は脳基底核の入力部であり、大脳皮質や視床からグルタミン酸の投射を受け、黒質からドーパミンの投射を受ける。グルタミン酸とドーパミンは、両者とも線条体の出力細胞である中型有棘細胞の樹状突起スパインに投射され、皮質線条体シナプス可塑性を引き起こす。皮質線条体シナプス可塑性はそれらの入力および線条体細胞の活動によって引き起こされる細胞内カルシウム濃度上昇およびドーパミン投射の強度に依存し、カルシウム依存シナプス可塑性およびドーパミン依存性シナプス可塑性として知られている^{15),21)}。

近年、皮質や海馬などではスパイクタイミング依存シナプス可塑性 (STDP) という、シナプス前細胞および後細胞の活動 (スパイク) のタイミングによってシナプス強度の長期増強、減弱が起こるといふ現象が注目されている。これらの部位では、シナプス後細胞での細胞内でのカルシウム増加がシナプス可塑性の増強/減弱の方向を決定していることが実験から示されている^{1),9),13),20)}。このとき、カルシウム増加が小さいとシナプス強度は変わらないが、それより大きいと長期減弱が起こり、さらにある閾値を超えると長期増強が起こる。一方で、皮質線条体シナプスにおいても STDP が報告されはじめているが、シナプス強度の長期変化を引き起こすタイミングが逆の相反する結果が得られている^{4),14)}。またドーパミン D1 型受容体の活性は皮質線条体シナプス可塑性に必要であるという報告もあるが¹⁴⁾、そのタイミングの影響については分かっていない。

皮質線条体シナプスの STDP を引き起こすカルシウム濃度変化のタイミング依存性を明らかにするために、本研究では皮質刺激、ドーパミン入力および線条体細胞の活動のタイミングが細胞内カルシウム増加にどのような影響を与えるかを、現実的な形態を持つ線条体細胞のマルチコンパートメントモデルを構築して調べた。ここで樹状突起の現実的な形態を用いた理由は、樹状突起上の皮質線条体シナプスでの逆伝搬活動電位の影響を可能な限り正確に評価するためである。

†1 奈良先端科学技術大学院大学

Nara Institute of Science and Technology

†2 沖縄科学技術大学院大学先行研究

Okinawa Institute of Science and Technology

2. 方法

2.1 電気生理学実験

Drd1a eGFP の遺伝子改変マウス (スイスウェブスター, P21-25) の皮質線条体の急性スライス (厚さ 300 μm) を用いた⁷⁾. D1 型ドーパミン受容体を発現している GFP 陽性細胞からのホールセル記録を電流クランプモードで行った. 形態データを得るために, パッチピペットからバイオサイチンを細胞内に導入し, ホールセル記録後に Alexa488 を用いて染色した.

2.1.1 形態学的モデル

モデルニューロンは, Wolf らによって提案されたモデル¹⁹⁾ に基づいて構築した. ただし, Wolf らのモデルでは細胞の形態は非常に単純化されたものであったため, 本研究では実際の中型有棘細胞から測定した形態をモデルに組み込み, より現実的なモデルを構築した (図 1). 3次元の細胞の形態データは, DSU 共焦点顕微鏡および NeuroLucida トレースシステムを用いて取得した. トレースデータは樹状突起の直径および長さを含み, それらの値と d_lambda ルールに基づいて, モデルニューロンを複数のコンパートメントに分割した¹⁰⁾. しかしトレースデータにはスパインが含まれていないため, 膜抵抗 R_m および膜容量 C_m をスパインの数に応じて補正し^{11),16)}, さらにスパイン内のカルシウム応答を推定するために, 近位樹状突起と遠位樹状突起に直径 1 μm , 長さ 1.2 μm のスパインをそれぞれ付け加えた.

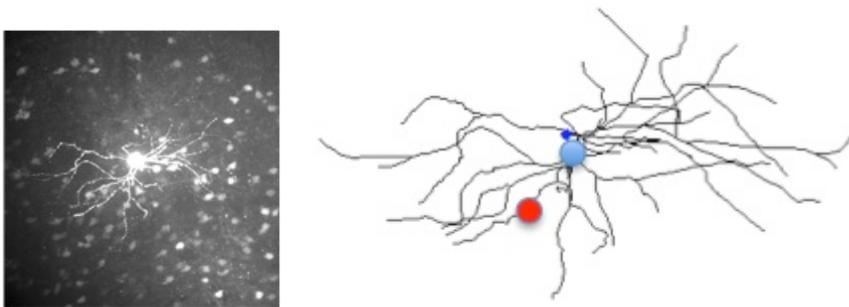


図 1 D1 型ドーパミン受容体発現型中型有棘細胞の形態. (左)Alexa488 で染色し DSU 共焦点顕微鏡を用いて観察した中型有棘細胞. (右)NEURON シミュレータモデルに変換した形態データ. 青および赤点はそれぞれシミュレーション上の観測地点とした近位および遠位樹状突起の位置を示す.

2.2 イオン電流

Wolf モデル¹⁹⁾ は, 2 種類のナトリウムチャンネル (NaF, NaP), 6 種類のカリウムチャンネル (Kir, KAs, KAf, KRP, SK, BK), 6 種類のカルシウムチャンネル (N タイプ, Q タイプ, R タイプ, T タイプ, 高電位活性型 L タイプ, 低電位活性型 L タイプ)²⁾, さらに AMPA, NMDA 型グルタミン酸受容体および GABA 受容体からのイオン電流を含んでいる.

Wolf モデルで用いられているこれらのチャンネルや受容体のパラメータを Neurofitter⁶⁾ を用いてホールセル記録データに適合するように修正した.

2.2.1 カルシウムダイナミクス

Wolf モデルは 4 つの簡単なカルシウムダイナミクス (1. AMPA, NMDA 型グルタミン酸受容体からのカルシウム流入. 2. カルシウムチャンネルからの流入. 3. カルシウムバッファ. 4. カルシウムポンプによる排出) を含んでいる. 本モデルではさらに細胞内カルシウムストア (小胞体; ER) からのリアノジン受容体や IP3 受容体を介したカルシウム流出を加えた¹²⁾. 細胞内カルシウムの過渡変化は,

$$\frac{d[Ca]_i}{dt} = k(J_{CICR} + J_{IP_3} - J_{Uptake} + J_{Leak} + J_{Channel} + J_{Synaptic} - J_{Pump}) + ([Ca]_0 - [Ca]_i)/\tau_r, \quad (1)$$

で表される. ここで J_{CICR} はリアノジン受容体を介した ER からのカルシウム誘発性カルシウム放出によるカルシウム電流であり, J_{IP_3} は IP3 (inositol-1,4,5-triphosphate) 受容体を介した ER からのカルシウム電流である. このカルシウム電流は細胞内カルシウム濃度に依存し, カルシウム濃度がおよそ 0.2 μM のときに最も大きくなる性質をもつ. IP3 は, グルタミン酸が代謝型グルタミン酸受容体に結合すると G タンパク質が活性化し, それによって増加する.

J_{Uptake} および J_{Leak} は, それぞれ, ER への取り込み過程および ER からの漏れによるカルシウム流量を表す¹²⁾. $J_{Channel}$ と $J_{Synaptic}$ はカルシウムチャンネルおよびカルシウム透過性グルタミン酸受容体からの流入を表す. J_{Pump} はポンプによる細胞外のカルシウムの排出を表しており, 最後の項は拡散と緩衝を表している¹⁹⁾.

2.2.2 ドーパミンモジュレーション

ドーパミン D1 受容体アゴニストは内向きカリウム電流および L タイプカルシウム電流を増加させる¹⁷⁾. Kir と L タイプカルシウム電流をスケールするドーパミンモジュレーション係数 μ を導入した. これにより, 膜電位 V_m 変化は膜容量 C_m により

$$C_m \frac{dV_m}{dt} = I_{NaF} + I_{NaP} \quad (2)$$

$$+ \mu I_{Kir} + I_{KAs} + I_{KAf} + I_{KRP} + I_{SK} + I_{BK}$$

$$+ I_{CaN} + I_{CaQ} + I_{CaR} + I_{CaT} + \mu(I_{CaL1.2} + I_{CaL1.3})$$

$$+ I_{AMPA} + I_{NMDA} + I_{GABA}$$

のように表される。ここで $I_{AMPA} + I_{NMDA} + I_{GABA}$ はそれぞれ AMPA, NMDA 型グルタミン酸受容体, GABA 受容体を介したシナプス電流, その他の I はそれぞれのチャネルからの電流を表す。 μ は定常ドーパミンレベルでは $\mu = 1$ であり, ドーパミンによって $\mu = 2.7$ 増加し, ドーパミン入力から 50 ミリ秒後にピークに達する⁸⁾。

3. 結 果

まず, in vitro ホールセルパッチクランプ実験から得られた D1 型ドーパミン受容体発現型中型有棘細胞の電気生理学的特性に合うようにモデルパラメータをフィッティングさせた⁶⁾。図 2 はステップ電流入力を細胞体に与えたときの応答を実験データとモデルとで比較したものである。モデルは, 約 -85 mV の低い静止膜電位, 弱い過分極応答, 活動電位後の浅い後過分極といった中型有棘細胞の基本的な特性を再現している。

このモデルを用いて以下の 3 点について詳細に調べた。

- (1) グルタミン酸入力および逆伝搬活動電位による樹状突起スパインでの膜電位およびカルシウム応答。
- (2) 前シナプス入力 (ドーパミン入力とグルタミン酸入力) と後シナプススパイクによるカルシウム応答のタイミング依存性。
- (3) グルタミン酸入力とドーパミン入力と後シナプススパイクの 3 要素のタイミングの相互作用。

さらにそれらの特性が樹状突起の遠位および近位によりどう違うか, また線条体における膜電位レベルの違いにどのような影響を受けるのかについて比較した。

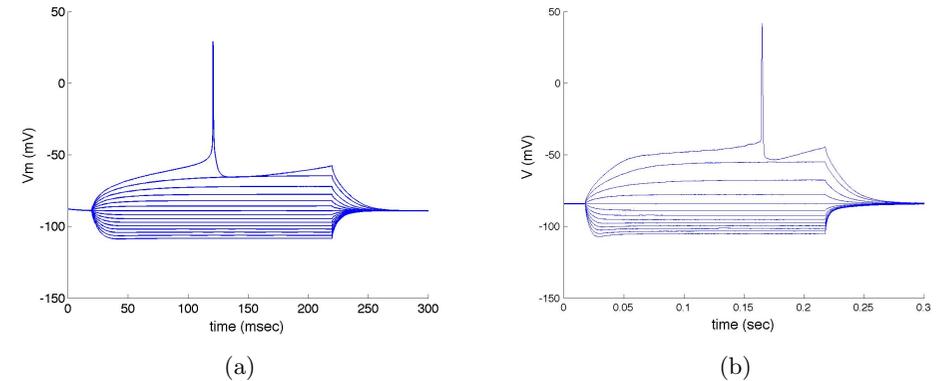


図 2 0.04 nA 間隔で 0.3 nA から 0.24 nA までのステップ電流を中型有棘細胞に与えたときの (a) モデルおよび (b) 実験での応答。

3.1 膜電位およびカルシウム応答

細胞体から 25 μm および 50 μm の距離にある樹状突起スパイン (図 1) での膜電位およびカルシウム応答を調べた。中型有棘細胞の膜電位は無数の皮質入力によって down-state (-85 mV) と up-state (-50 mV) の二状態で振動している¹⁸⁾。本シミュレーションでは up-state を模して 0.2 nA の定常電流入力を細胞体に与え, 定常電流入力を与えない条件を down-state とした。

図 3 はグルタミン酸入力を与えたときのシミュレーション結果である。遠位および近位樹状突起での膜電位応答 (EPSP) とカルシウム応答はほとんど同じであり, up-state では両者とも増強された (図 3 (a, b))。図 3 (c) および (d) は, それぞれ down-state および up-state での近位樹状突起スパインでのカルシウム電流源を示す。down-state と比べてときの up-state でのカルシウム応答の増加は電位依存性カルシウムチャネル, NMDA 型グルタミン酸受容体および ER からのカルシウム流出の増加によるものである。

図 4 は後シナプス細胞への電流パルス入力 (2.5 nA, 2 ミリ秒) によって発生したスパイクによる応答である。樹状突起スパインへ逆伝搬したスパイク (bAP) は down-state, up-state に関わらず遠位樹状突起では減衰し (図 4(a)), カルシウム応答も近位樹状突起よりも弱くなる (図 4(b))。bAP によるカルシウム流は, down-state でも up-state でも主に L タイプカルシウムチャネルによるものであった (図 4(c, d))。

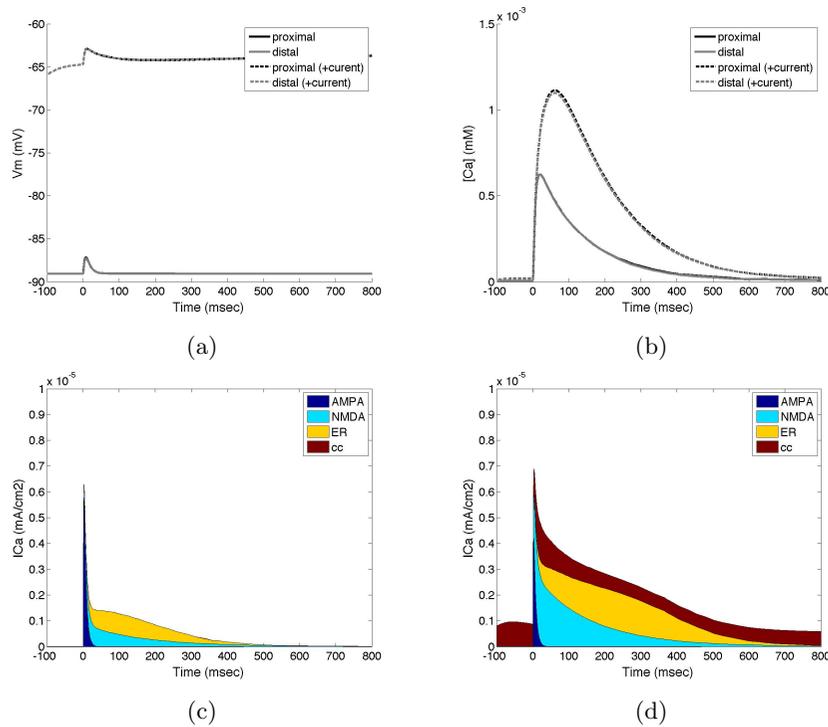


図3 グルタミン酸入力による (a) 膜電位および (b-d) カルシウム 応答。実線は down-state, 破線は定常電流入力による up-state での応答を示す。下段は (c)down-state および (d)up-state での近位樹状突起での様々なカルシウム源の変化を表す。なお、凡例中の cc はすべてのカルシウムチャネルを流れるカルシウムの総流量を表す。

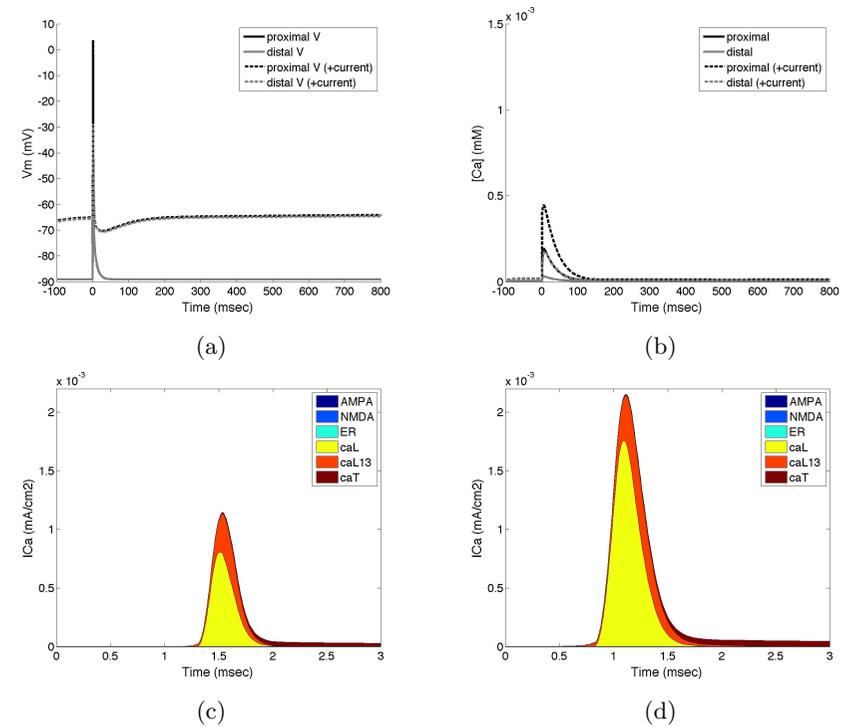


図4 後シナプス細胞スパイクによる (a) 膜電位および (b-d) カルシウム 応答。実線は down-state, 破線は定常電流入力による up-state での応答を示す。下段は (c)down-state および (d)up-state での近位樹状突起での様々なカルシウム源の変化を表す。

3.2 前シナプス入力と後シナプススパイクのタイミング

次に、2要素 (1: 皮質グルタミン酸入力と後シナプススパイク, 2: ドーパミン入力と後シナプススパイク) のタイミングに依存する神経応答のシミュレーションを行った。図5 (a) はグルタミン酸入力 (上段) やドーパミン入力 (下段) のタイミングが後シナプスのスパイク発生より 20 ミリ秒早いとき (灰色) と 20 ミリ秒遅いとき (黒色) のカルシウム応答を示している。両者とも入力のタイミングに比べて後シナプススパイクが遅れて届くときの方がカルシウム応答は大きくなる。図5 (b) は後シナプススパイクの発生時刻をオンセットとして、2要素の各入力タイミングに対するカルシウム応答のピーク値を示している。

図6は図5の各条件下におけるカルシウム流源を示している。グルタミン酸入力の変えられたとき(上段)では、タイミング依存のカルシウム増加は主にNMDA受容体からのカルシウム流入量が増えることによって起こっており、これは今まで実験から示唆されている知見と合致する^{3),5)}。ドーパミン入力の変えられたとき(下段)では、タイミング依存のカルシウム応答の違いがLタイプカルシウムチャンネルからの流入量の変化によってもたらされていることが分かる。

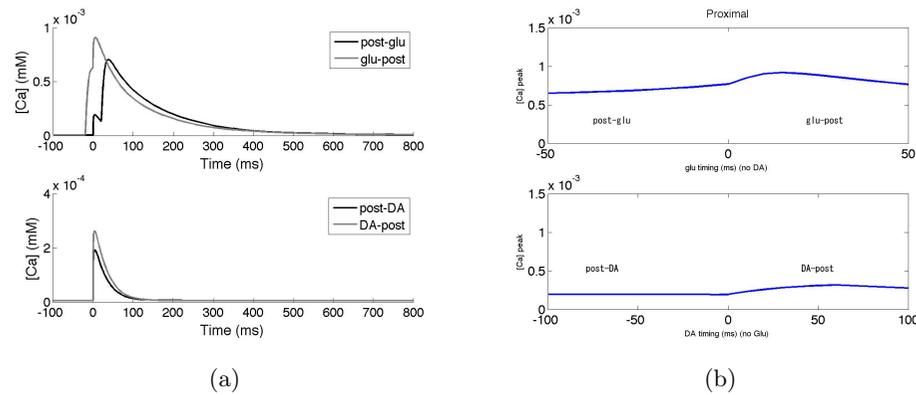


図5 後シナプススパイク発生タイミングと2種類の前シナプス入力(グルタミン酸入力とドーパミン入力)のタイミングに依存したカルシウム応答。(上段)前シナプス入力をグルタミン酸入力のみとした場合。(下段)前シナプス入力をドーパミン入力のみとした場合。(a)カルシウム応答の時系列。灰色線と黒線は、それぞれ、後シナプススパイク発生に比べて前シナプス入力が20ミリ秒早い時と20ミリ秒遅い時の結果。(b)各入力タイミングに対するカルシウム応答のピーク値。横軸は後シナプススパイク発生時をオンセットとした時の前シナプス入力のタイミング。

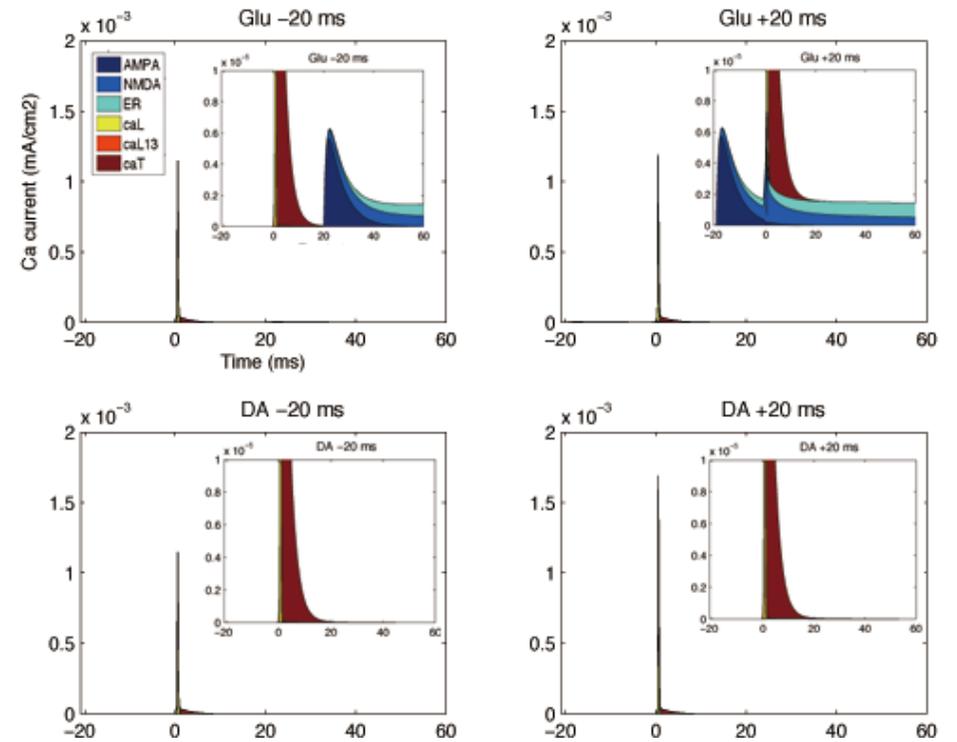


図6 図5の各条件下における近位樹状突起でのカルシウム電流、後シナプススパイク発生時刻をオンセットとし、(a)グルタミン酸入力が20ミリ秒前に、(b)グルタミン酸入力が20ミリ秒後に、(c)ドーパミン入力が20ミリ秒前に、(d)ドーパミン入力が20ミリ秒後に、それぞれ与えられた時の結果を示している。各パネル中の差し込み図は、カルシウム電流が $0-10^{-5} \text{ mA/cm}^2$ の範囲を拡大させたものである。AMPAおよびNMDA型受容体からの電流は、グルタミン酸→後シナプススパイク発生タイミングで生じるカルシウム応答において支配的であったが、ドーパミン入力→後シナプススパイク発生タイミングで生じるカルシウム応答ではカルシウムチャンネルからの電流が支配的となった。

3.3 Triplet interaction

さらに、カルシウム応答のグルタミン酸、ドーパミン、後シナプススパイクの3者のタイミング入力による依存性を調べた。図7は近位スパイン(左列)、遠位スパイン(右列)でのカルシウム応答のピーク値を示している。down-state下にある近位スパイン(a)では、ドーパミン入力後シナプススパイクよりも約50ミリ秒先行しているときにドーパミン入力の効果が最も大きくなる。一方、同じdown-state下でも遠位スパイン(b)では、ドーパミン入力タイミングの影響は見られなかった。bAPは遠位樹状突起では近位樹状突起よりも減衰し、小さいbAPでは電位依存性カルシウムチャンネルを活性化できないため、遠位樹状突起ではカルシウム応答のピーク値は近位樹状突起よりも小さくなる。

また、ドーパミン入力によるカルシウム応答の変化は線形加算ではないことは注目に値する。カルシウムレベルはグルタミン酸とドーパミン入力後シナプススパイクよりも先行するときのみ大きく上昇する。

カルシウム応答はup-stateで増強され(図7(c,d))、カルシウム応答が最大となるグルタミン酸と後シナプススパイクとのタイミングは+15msから+50msにずれる。興味深いことに、このタイミング依存はNMDA受容体を阻害するとほとんどなくなる(図7(e,f))。これはNMDA受容体がタイミング依存のカルシウム応答を調節していることを示唆する。

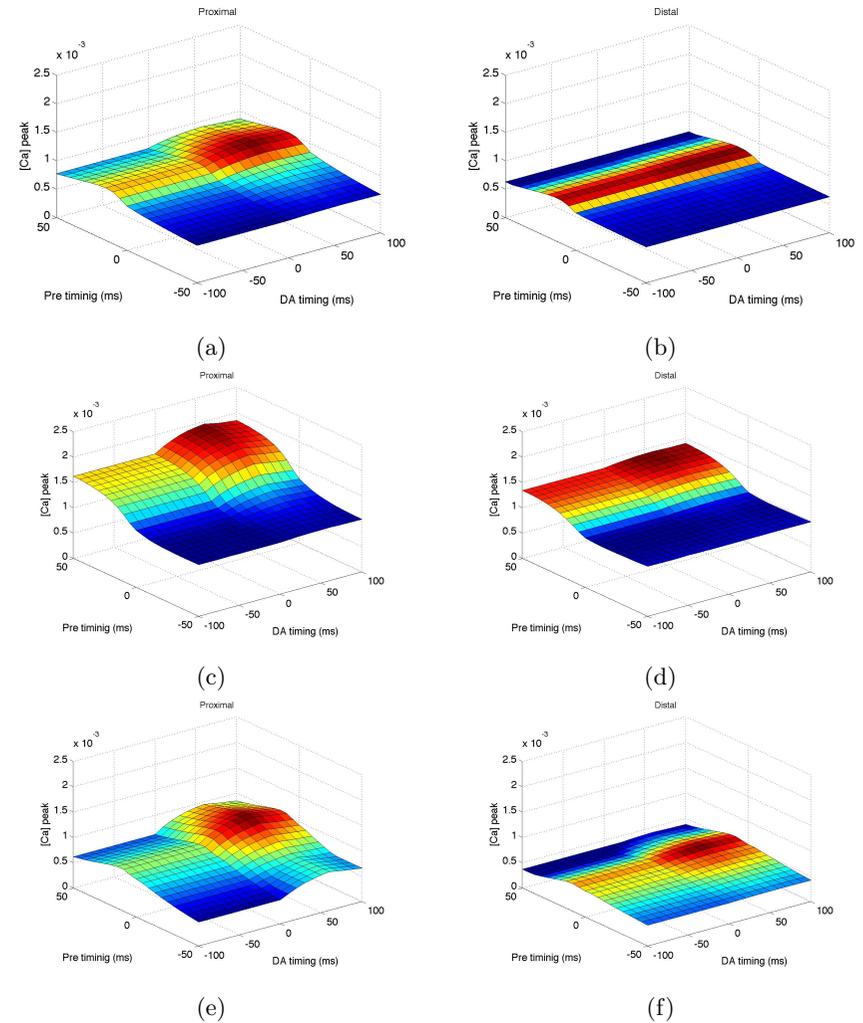


図7 3種類(グルタミン酸、ドーパミンおよび後シナプススパイク)の入カタイミングに依存した近位および遠位樹状突起スパインにおけるカルシウム応答のピーク値。左段(a,c,e)と右段(b,d,f)は、それぞれ近位と遠位樹状突起スパインでの観測結果を、上段(a-b)、中段(c-d)と下段(e-f)は、それぞれ、down-state下、up-state下とNMDA型受容体が阻害された条件でのup-state下における結果を示している。すべてのパネルに共通して、2つの横軸は、後シナプススパイク発生タイミングをオンセットとして、(Glu timing):グルタミン酸入力タイミングと(DA timing):ドーパミン入力タイミングとを表している。縦軸は各タイミングにおけるカルシウム応答のピーク値である。

4. 結 論

実際の形態を基にした線条体中型有棘細胞のマルチコンパートメントモデルを構築した。本シミュレーションによる主な発見は以下の通りである。1. 後シナプススパイクよりグルタミン酸入力が行先するとカルシウム応答は大きくなり、この現象は NMDA 受容体が原因となっている。2. 後シナプススパイクよりドーパミン入力が行先するとカルシウム応答は大きくなり、これは L タイプカルシウムチャネルによって引き起こされている。3. ドーパミン入力タイミングの影響は、ドーパミン、グルタミン酸入力両方が後シナプススパイクよりも先行しているときでないとみられず、さらにこの現象は近位樹状突起でしかみられない。4. up-state では後シナプススパイクよりも先行するドーパミン入力は、遠位樹状突起でもカルシウム応答を増加させる。

参 考 文 献

- 1) Artola, A. and Singer, W.: Long-term depression of excitatory synaptic transmission and its relationship to long-term potentiation, *Trends in Neurosciences*, Vol.16, No.11, pp.480–7 (1993).
- 2) Catterall, W.A.: Structure and regulation of voltage-gated Ca²⁺ channels, *Annu Rev Cell Dev Biol*, Vol.16, pp.521–55 (2000).
- 3) Dan, Y. and Poo, M.-M.: Spike timing-dependent plasticity of neural circuits, *Neuron*, Vol.44, No.1, pp.23–30 (2004).
- 4) Fino, E., Glowinski, J. and Venance, L.: Bidirectional activity-dependent plasticity at corticostriatal synapses, *J Neurosci*, Vol.25, No.49, pp.11279–87 (2005).
- 5) Froemke, R.C., Poo, M.-M. and Dan, Y.: Spike-timing-dependent synaptic plasticity depends on dendritic location, *Nature*, Vol.434, No.7030, pp.221–5 (2005).
- 6) Geit, W.V., Achard, P. and Schutter, E.D.: Neurofitter: A parameter tuning package for a wide range of electrophysiological neuron models, *Frontiers in Neuroinformatics* (2007).
- 7) Gong, S., Zheng, C., Doughty, M.L., Losos, K., Didkovsky, N., Schambra, U.B., Nowak, N.J., Joyner, A., Leblanc, G., Hatten, M.E. and Heintz, N.: A gene expression atlas of the central nervous system based on bacterial artificial chromosomes, *Nature*, Vol.425, No.6961, pp.917–25 (2003).
- 8) Gruber, A.J., Solla, S.A., Surmeier, D.J. and Houk, J.C.: Modulation of striatal single units by expected reward: a spiny neuron model displaying dopamine-induced bistability, *J Neurophysiol*, Vol.90, No.2, pp.1095–114 (2003).
- 9) Hansel, C., Artola, A. and Singer, W.: Relation between dendritic Ca²⁺ levels and the polarity of synaptic long-term modifications in rat visual cortex neurons, *Eur J Neurosci*, Vol.9, No.11, pp.2309–22 (1997).
- 10) Hines, M.L. and Carnevale, N.T.: NEURON: a tool for neuroscientists, *The Neuroscientist : a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry*, Vol.7, No.2, pp.123–35 (2001).
- 11) Koch, C.: Biophysics of Computation (2004).
- 12) Koch, C. and Segev, I.: Methods in Neuronal Modeling: From Ions to Networks, p.671 (1998).
- 13) Lisman, J.: A mechanism for the Hebb and the anti-Hebb processes underlying learning and memory, *Proc Natl Acad Sci USA*, Vol.86, No.23, pp.9574–8 (1989).
- 14) Pawlak, V. and Kerr, J. N.D.: Dopamine receptor activation is required for corticostriatal spike-timing-dependent plasticity, *J Neurosci*, Vol.28, No.10, pp.2435–46 (2008).
- 15) Reynolds, J. and Wickens, J.: Dopamine-dependent plasticity of corticostriatal synapses., *Neural Netw*, Vol.15, No.4-6, pp.507–21 (2002).
- 16) Segev, I.: Single neuron models: oversimple, complex and reduced, *Trends in Neurosciences*, Vol.15, No.11, pp.414–21 (1992).
- 17) Surmeier, D. J., Bargas, J., Hemmings, H. C., Nairn, A. C. and Greengard, P.: Modulation of calcium currents by a D1 dopaminergic protein kinase/phosphatase cascade in rat neostriatal neurons, *Neuron*, Vol.14, No.2, pp.385–97 (1995).
- 18) Wilson, C.J. and Kawaguchi, Y.: The origins of two-state spontaneous membrane potential fluctuations of neostriatal spiny neurons, *J Neurosci*, Vol.16, No.7, pp.2397–410 (1996).
- 19) Wolf, J.A., Moyer, J.T., Lazarewicz, M.T., Contreras, D., Benoit-Marand, M., O'Donnell, P. and Finkel, L.H.: NMDA/AMPA ratio impacts state transitions and entrainment to oscillations in a computational model of the nucleus accumbens medium spiny projection neuron, *Journal of Neuroscience*, Vol.25, No.40, pp.9080–95 (2005).
- 20) Zucker, R.S.: Calcium- and activity-dependent synaptic plasticity, *Current Opinion in Neurobiology*, Vol.9, No.3, pp.305–13 (1999).
- 21) 中野高志, 土居智和, 吉本潤一郎, 銅谷賢治: 線条体シナプス可塑性の分子機構のシミュレーション研究, 第9回バイオ情報学研究会, pp.SIG-BIO-9-8 (2007).