

研究・調査報告書

分類番号	報告書番号	担当
B-210	15-234	高崎健康福祉大学
題名(原題/訳)		
Aldehyde dehydrogenase 1a1 mediates a GABA synthesis pathway in midbrain dopaminergic neurons. アルデヒド脱水素酵素 1a1 は中脳ドーパミン神経の GABA 合成経路を仲介している		
執筆者		
Kim JI, Ganesan S, Luo SX, Wu YW, Park E, Huang EJ, Chen L, Ding JB.		
掲載誌		
Science. 2015; 350(6256):102-6. doi: 10.1126/science.aac4690.		
キーワード	PMID:	
エタノール、線条体、GABA、ALDH、ドーパミン神経系、共放出	26430123	
要旨		
<p>目的: 中脳ドーパミン(DA)神経は、微細運動、意欲、報酬学習などで重要である。DA は、DA 神経系から遊離され、シナプス後 DA 受容体を活性化して神経興奮や出力回路を調整している。最近、抑制性神経伝達物質の GABA が DA 神経から共放出されることが報告された。哺乳類中枢神経系では、GABA 生合成は 2 種類のグルタミン酸脱炭酸酵素(GAD65、GAD67)によって調節されている。DA 神経細胞での GAD 発現を検討した結果、黒質緻密部や腹側被蓋野での <i>Gad</i> 遺伝子発現の割合は 9~15%のみであった。本研究は、線条体の GABA 作動性神経伝達で GAD が必要なかどうかを、GAD の薬理的な阻害や領域特異的遺伝子除去を行い、有棘投射神経細胞(SPN)のドーパミン作動性抑制性シナプス後電流の変化を測定することで検討した。また、哺乳類細胞では、GABA がプトレシンからジアミンオキシダーゼとアルデヒド脱水素酵素(ALDH)で合成される経路があることから、ALDH を介する GABA 合成経路の関与について検討した。</p> <p>方法: 線条体からの GABA 作動性 SPN の出力は、直接路(dSPN)と間接路(iSPN)の 2 種類から成り、シナプス後の DA 受容体の発現も異なる。脳切片での dSPN と iSPN の同定およびタンパク発現の神経特異的な制御のため、dSPN と iSPN に対して特異的な遺伝子を有する遺伝子改変マウスを作成した。また、GAD あるいは ALDH1a1 を欠損した(<i>Aldh1a1</i>^{-/-})マウスを作成した。神経系の刺激は、チャンネルロドプシン 2(ChR2)を発現させ、光遺伝学的(Og:optogenetics)に行った。マウス脳より脳切片(背側線条体あるいは側坐核)を調製し、有棘投射細胞でのホールセルパッチクランプ法でシナプス応答(抑制性シナプス後電流:IPSC)を解析した。</p> <p>結果: iSPN 軸索の Og 刺激は、dSPN での IPSC を発生し、この IPSC は GAD 阻害薬 3-MPA で抑制され、iSPN から由来する側枝抑制伝達は GAD 機能に依存していることを示した。iSPN 神経の GAD 欠損は、dSPN での IPSC をほとんど消失させ、線条体内の通常の GABA 作動性神経伝達では GAD 仲介性 GABA 合成が必須であることを示している。SPN へ投射している中脳 DA 神経での GABA 共放出に GAD が必要かどうか、DA 神経に ChR2 を発現させ、背側線条体シナプス後 SPN の IPSC を測定した。3-MPA 処置と中脳 DA 神経 GAD 欠損で、SPN の IPSC の変化はなく、中脳 DA 神経 GABA 共放出には、古典的な GAD 仲介性 GABA 合成は必要ではない。ALDH 阻害薬の DEAB やジスルフィラム処置、中脳 DA 神経の ALDH1a1 発現の RNA 干渉での抑制、また、<i>Aldh1a1</i>^{-/-}マウスの背側線条体で、DA 作動性 SPN の IPSC は著しく減少した。このことは、DA 神経のシナプス前 ALDH1a1 発現が GABA 合成と共放出で重要であることを示唆している。<i>ALDH1a1</i> の遺伝子変異はヒトのアルコール依存症と関連しており、薬物乱用で DA 神経の GABA 共放出が変化する可能性がある。この観点から、エタノールを <i>in vivo</i> で反復投与し、離脱したマウスでの GABA 共放出を検討した。エタノール反復投与で、SPN の IPSC は減少した。さらに、脳切片での <i>in vitro</i> エタノール持続的処置で、DA 神経軸索刺激後の SPN の IPSC は減少した。また、エタノールによる GABA 共放出の低下は、<i>Aldh1a1</i>^{-/-}マウスでは見られず、エタノールによる変化は <i>Aldh1a1</i> に依存していることを示唆している。エタノールによる行動変化に関する <i>ALDH1a1</i> 欠損の影響を連続的 2 ボトル選択試験で検討した結果、<i>Aldh1a1</i>^{-/-}マウスあるいは対照マウス中脳 <i>Aldh1a1</i> の RNA 干渉で、エタノール摂取と嗜好性が上昇した。</p> <p>結論: 本研究の結果は、エタノールは GABA 生合成を阻害し、GABA 共放出を抑制することを示し、エタノール曝露が GABA 作動性シナプスの活性に影響する新たな機序を提示している。ヒトでの <i>Aldh1a1</i> 変異と類似して、GABA 共放出の低下と ALDH1a1 活性はアルコール摂取と嗜好性行動の亢進に直接的に関与していると考えられる。</p>		