総 説

中枢シナプス伝達を制御するカルシウムチャネル

初山 俊彦

要約：中枢神経系の興奮性および抑制性シナプス伝達は、シナプス前終末に存在する複数種のカルシウムチャネルサブタイプによって制御されている。幼若ラット脳および脊髄のスライス標本に N 型および P/Q 型カルシウムチャネルに選択的なブロッカーを投与し、シナプス電流あるいはシナプス電位に対する効果を解析することにより、これまでに海馬、小脳、脊髄、脳幹、線条体等におけるシナプス伝達に対する N 型、P/Q 型、その他のカルシウムチャネルサブタイプの関与の程度が定量化されている。また、ドパミン等の修飾物質のシナプス前受容体活性化により、シナプス前終末へのカルシウム流入が遮断されて、その結果グルタミン酸や GABA の遊離が抑制される、という機構がいくつかの中枢シナプスで報告されており、特に、線条体ではシナプス前 D₂ 型受容体と N 型チャネルとの選択的な共役が最近明らかとなった。さらに、いくつかの中枢シナプスでは生後週 2-3 週までに、シナプス伝達に対する N 型チャネルの関与が消失することが明らかになっている。今後は、シナプス前終末におけるカルシウムチャネル各サブタイプと生理活性物質受容体および伝達物質遊離部位との位置関係、受容体活性化によるこれらの機能分子の動態、生後発達変化を形態学的にも捉えることが望まれる。

1. はじめに

哺乳動物の中枢神経系において、ニューロンの興奮性を神経伝達物質の放出へつなげる上で、カルシウムチャネルが中心的な役割をはたしていることは既に確立した概念と言える(1)。カルシウムチャネルのサブタイプに選択的な

ブロッカーの出現によって、中枢シナプスにおける伝達物質放出には複数種のカルシウムチャネルサブタイプが関与していることが明らかになっている(2~4)。また、生理活性物質によるシナプス前受容体を介するシナプス伝達修飾作用が報告されているが、シナプス前受容体活性化により、シナプス前終末へのカルシウム流入が抑制されて伝達物質遊離が抑制される、という機構がいくつかの中枢シナプスにおいて報告されている(5~8)。さらに、伝達物質遊離を制御するカルシウムチャネルサブタイプは生後発達過程で不変ではなく、シナプスによってはダイナミックなサブタイプスイッチが起こることも最近の研究により明らかになってきた(9,10)。本稿では、中枢シナプス伝達を制御するカルシウムチャネルサブタイプ、生理活性物質による伝達物質遊離修飾作用とカルシウムチャネルとの関係、伝達物質遊離を制御するカルシウムチャネルサブタイプの生後発達変化について、最新のデータをもとに概説する。

2. 選択的ブロッカーによる薬理学的解析

カルシウムチャネルサブタイプに選択的なブロッカーの開発によって、ニューロンの細胞体において複数種のカルシウムチャネルサブタイプが同定されている。即ち、L 型チャネルに選択的な dihydropyridine 類 (DHPs) (11)、N 型チャネルに選択的な ω -conotoxin (ω -CgTX) (12)、P/Q 型チャネルに選択的な ω -agatoxin (ω -Aga) (13) の出現により、カルシウムチャネル研究は飛躍的に進展した。

シナプス伝達を制御する軸索終末のカルシウムチャネルであるが、小脳、海馬、脊髄等における興奮性あるいは抑制性シナプス後電流に対する上記 3 種のブロッカーの抑制作用を解析することにより、イオンチャネル結合型受容体を介するいわゆる fast synaptic transmission には、N 型および P/Q 型チャネルが関与し、L 型チャネルは関与しないということが報告され(2~4,8)、これは L 型チャネルが主として細胞体やその近傍の樹状突起に局在するという形態学的なデータとも合致する(14)。1 例として、ラット線条体のアセチルコリン性介在ニューロンへの GABA

キーワード：シナプス伝達、カルシウムチャネル、N 型チャネル、P/Q 型チャネル、生後発達変化

岡崎国立共同研究機構 生理学研究所 大脳皮質機能研究系 脳形態解析研究部門

(〒444-8585 岡崎市明大寺町字西郷中 38)

e-mail: tmomi@nips.ac.jp

原稿受領日：2001 年 1 月 31 日，編集委員会依頼総説

Fig. 1 Time course of the inhibitory effect of ω -CgTX (3 μ M) and ω -Aga (200 nM) on the amplitude of the IPSCs evoked every 5 s at the holding potential of -60 mV in the presence of CNQX (5 μ M), D-AP5 (25 μ M) and strychnine (0.5 μ M). Each point represents the mean amplitude of five consecutive responses. Toxins were applied in the bath during the indicated periods. Superimposed traces on the right are averages of 20 consecutive IPSCs during the indicated periods in the time course plot.

性シナプス伝達における各サブタイプの関与について述べる(8)(図1). アセチルコリン性介在ニューロンからホールセル記録を行ない, 興奮性入力およびグリシン性入力を薬理的に遮断した状態で記録ニューロン近傍に細胞外電気刺激を与えることにより, GABA 性抑制性シナプス後電流 (IPSCs) を誘発することができる(図1). 5秒に1回 IPSCs を誘発しつつ, 外液中に ω -CgTX (3 μ M) を投与すると, IPSCs の振幅は徐々に小さくなり, 数分で平衡に達する(図1). ω -CgTX の作用は非可逆的である. 次いで外液中に ω -Aga (200 nM) を加えると, IPSCs はさらに抑制され, やはり数分で平衡に達する(図1). ω -CgTX の抑制効果は $65.4 \pm 3.3\%$ ($n=11$) であった(図2A). また, ω -Aga を先に投与することにより ω -Aga の抑制効果を算出すると, $78.4 \pm 2.7\%$ ($n=7$) であった(図2A). そして, この2つのブロッカーを加えた際の抑制効果は $95.9 \pm 1.5\%$ ($n=6$) であった(図2A). さて, この2つのブロッカーは各々 N 型および P/Q 型チャンネルに選択的なブロッカーとして確立しているものであるが, この数値を見ると, 一見2つのブロッカーの効果に重なりがあるように見える. この重なりについては, シナプス前終末におけるカルシウムイオン濃度と伝達物質放出との non-

linear relationship により説明できる. 即ち, シナプス前終末へのカルシウムイオン流入が減少すると, 伝達物質放出は, より大きな割合で減少するということである. これまでに報告されている神経筋接合部およびいくつかの中枢シナプスにおけるデータによれば(3, 8, 15~18), シナプス後電位あるいはシナプス後電流の振幅は, シナプス前終末のカルシウムイオン濃度の3乗あるいは4乗に比例する(図2 legend 参照). しかしながら, この考え方では解決のつかないデータも報告されており(19, 20), 場合によってはより精密な補正が必要と考えられる.

ω -CgTX と ω -Aga との同時投与によっても抑制されないシナプス電流成分であるが, ラット脳幹の聴覚中継核の興奮性シナプスでは, これまでにクローン化されているカルシウムチャンネル(14, 21, 22)の内の R 型であることが示唆されている(23). ただしこの点については, 後述の生後発達変化が重要なポイントとして関わってくる.

3. シナプス伝達修飾物質との関係

ドパミン, アデノシン, オキシトシン, カンナビノイド等様々な生理活性物質によるシナプス前受容体を介する中枢シナプス伝達修飾作用が報告されている(5~8, 24~26).

Fig. 2 A: Histograms summarizing the suppression of evoked IPSCs by ω -CgTX (3 μM) and ω -Aga (200 nM). Values for ω -CgTX, ω -Aga, and both toxins are $65.4 \pm 3.3\%$ ($n = 11$), $78.4 \pm 2.7\%$ ($n = 7$), and $95.9 \pm 1.5\%$ ($n = 6$), respectively. B: Histograms summarizing the estimated fractions of Ca^{2+} -channel subtypes involved in the GABAergic synaptic transmission onto striatal cholinergic interneurons. Assuming a power function for the relationship, the relative amplitude of postsynaptic currents remaining after application of ω -CgTX (A), ω -Aga-IVA (B) or both toxins (C) can be described as $A = (1-a)^m$, $B = (1-b)^m$ and $C = (1-a-b)^m$, where a , b and c represent a fraction of presynaptic Ca^{2+} channel subtypes sensitive to ω -CgTX (a) and ω -Aga-IVA (b) and those insensitive to these toxins (c), respectively, where m is the power coefficient. If each toxin at the present concentration selectively blocks only one presynaptic Ca^{2+} channel subtype, $a + b + c$ should be unity. Assuming $m = 3$ or $m = 4$, the value was 1.04 ($a = 0.298$, $b = 0.400$, $c = 0.345$) or 1.00 ($a = 0.233$, $b = 0.318$, $c = 0.451$), respectively, supporting the idea that there was little overlap in terms of Ca^{2+} channel subtypes responsible for transmitter release.

そして、いくつかのシナプスでは、シナプス前終末へのカルシウムイオン流入を阻害することによってグルタミン酸や GABA の放出が抑制される、という機構が明らかになっている(5~8)。その場合、シナプス前カルシウムチャンネルを直接遮断するのか、あるいはカルシウム依存性カリウムチャンネルに作用するのか、という疑問が生じるが、最近、線条体のアセチルコリン性介在ニューロンへの GABA 性シナプス伝達が、シナプス前 D_2 型受容体活性化により抑制され、その抑制は、シナプス前の N 型カルシウムチャンネルを選択的に遮断することによるカルシウムイオン流入阻害による、という機構が明らかになった(8)(図3)。

4. 生後発達変化

上述のような、複数種のカルシウムチャンネルサブタイプによる中枢シナプス伝達制御は生後発達とともに変化するのが否か、という疑問が生じる。この疑問にアプローチする研究が最近進み、いくつかの中枢シナプスについて、その解答が得られた(9,10)。聴覚中継核の興奮性シナプス、小脳深部核の抑制性シナプスおよび視床の興奮性シナプスでは、生後 2-3 週までに、 ω -CgTX に対するシナプス電流の感受性がなくなる、即ち、シナプス伝達に対する N 型チャンネルの関与が消失する。そして、 ω -Aga に対する感受性は逆に増加する傾向にあり、即ち、ほとんど P/Q 型のみが関与するようになるということである。この点については、聴覚中継核の興奮性シナプスにおける詳細な解析が報告されており、生後 10 日までのラットではシナプス伝達に関与するカルシウムチャンネルの約 25% は N 型でも P/Q 型でもなく、おそらく R 型であることが示唆されている(23)。生後 10 日以降ではシナプス伝達に関与するカルシウムチャンネルの 96% が P/Q 型である(27)。一方、大脳皮質視覚野 IV 層の錐体ニューロンから記録された興奮性シナプス後電流および脊髄後角ニューロンから記録された抑制性シナプス後電流は、生後 50 日まで ω -CgTX に対する感受性が変化せず、N 型チャンネルの関与が持続する(10)。それでは、上述のようにシナプス前 D_2 型受容体との選択的共役が示された線条体抑制性シナプスの N 型チャンネルの場合はどうであろうか？シナプス前 D_2 型受容体を介する修飾機構の生後発達との関連のみならず、大脳基底核関連機能と老化との関係、関連疾患の発症年齢といった臨床医学的見地からも興味深い。

5. 終わりに

中枢シナプス伝達を制御するカルシウムチャンネルサブタイプの機能に関する研究はここ数年で進展した。次の興味は、シナプス前終末における各サブタイプの割合を形態学的に定量化すること、さらに、カルシウムチャンネルとチャ

Fig. 3 Dopamine (DA)-induced inhibition of IPSCs is selectively coupled to N-type Ca^{2+} -channels. Each trace in A and B represents the averaged trace of 20 consecutive IPSCs evoked every 5 s at -60 mV in the presence of CNQX (5 μM), D-AP5 (25 μM) and strychnine (0.5 μM). Toxins were applied after IPSCs had recovered from the inhibition by an initial application of DA. After the toxin-induced suppression had reached steady state, DA was applied again. DA no longer affected IPSCs after ω -CgTX had reached its steady-state effect ($2.9 \pm 1.4\%$ inhibition, $n = 6$). In contrast, DA still had an effect ($55.7 \pm 7.6\%$ inhibition, $n = 5$) after suppression by ω -Aga-IVA had reached the steady state. Effects by DA alone ($44.2 \pm 5.9\%$, $n = 5$) and DA in the presence of ω -Aga-IVA ($55.7 \pm 7.6\%$, $n = 5$) were not significantly different ($P > 0.05$).

Fig. 4 A hypothetical schema showing the localization of multiple types of Ca^{2+} -channels and D_2 -like receptors (D_2) in the GABAergic terminal onto cholinergic interneurons in the striatum. N, N-type Ca^{2+} channels; P/Q, P/Q-type Ca^{2+} channels; others, other types of Ca^{2+} channels.

ネル機能を修飾するシナプス前受容体および伝達物質遊離部位との位置関係、受容体活性化に伴う離合集散、さらにそれらの生後発達変化を可視化することである。たとえば上述のように、線条体の GABA 性シナプスでも複数のカルシウムチャンネルが GABA 遊離を制御しているにもかかわらず、シナプス前 D_2 型受容体は N 型チャンネルのみと選択的に共役していることは興味深い、N 型チャンネルは P/Q 型あるいは他のサブタイプのカルシウムチャンネルに比べてより D_2 型受容体の近くに局在しているのだろうか(図 4)? こういった仮説を検証するためには電子顕微鏡レベルの精緻な形態学的解析が必要であるが、実際問題として、カルシウムチャンネル各サブタイプおよび D_2 型受容体に対する鋭敏な抗体は世界的にもなかなか存在せず、まず抗体作成が難事業である。近い将来の成果が期待される。また、N 型チャンネルは痛み受容に参与していることが示唆されており(28~30)、線条体のシナプス前 D_2

型受容体との共役という知見からは、運動制御機能あるいはその病的状態 (31, 32) として、パーキンソン病と N 型チャネルとの関わりが示唆される。したがって、これらの病態に対する、カルシウムチャネルを標的とした治療薬の開発の可能性にも期待したい。

文 献

- 1) Katz B: The Release of Neural Transmitter Substances. Liverpool University Press (1969)
- 2) Luebke JI, Dunlap K and Turner TJ: Multiple calcium channel types control glutamatergic synaptic transmission in the hippocampus. *Neuron* **11**, 895-902 (1993)
- 3) Takahashi T and Momiyama A: Different types of calcium channels mediate central synaptic transmission. *Nature* **366**, 156-158 (1993)
- 4) Wheeler DB, Randall A and Tsien RW: Roles of N-type and Q-type Ca^{2+} channels in supporting hippocampal synaptic transmission. *Science* **264**, 107-111 (1994)
- 5) Momiyama T, Sim JA and Brown DA: Dopamine D_1 -like receptor-mediated presynaptic inhibition of excitatory transmission onto rat magnocellular basal forebrain neurones. *J Physiol (Lond)* **495**, 97-106 (1996)
- 6) Koga E and Momiyama T: Presynaptic dopamine D_2 -like receptors inhibit excitatory transmission onto rat ventral tegmental dopaminergic neurones. *J Physiol (Lond)* **523**, 163-173 (2000)
- 7) Momiyama T: Dopamine-induced presynaptic modulation of excitatory and inhibitory transmission in the central nervous system. In *Slow Synaptic Responses and Modulation*, Edited by Kuba K, Higashida H, Brown DA and Yoshioka T, pp 410-415, Springer-Verlag, Tokyo (2000)
- 8) Momiyama T and Koga E: Dopamine D_2 -like receptors selectively block N-type Ca^{2+} channels to reduce GABA release onto rat striatal cholinergic interneurons. *J Physiol (Lond)* **533**, 479-492 (2001)
- 9) Iwasaki S and Takahashi T: Developmental changes in calcium channel types mediating synaptic transmission in rat auditory brainstem. *J Physiol (Lond)* **509**, 419-423 (1998)
- 10) Iwasaki S, Momiyama A, Uchitel OD and Takahashi T: Developmental changes in calcium channel subtypes mediating central synaptic transmission. *J Neurosci* **20**, 59-65 (2000)
- 11) Fox AP, Nowycky MC and Tsien RW: Kinetic and pharmacological properties distinguishing three types of calcium currents in chick sensory neurones. *J Physiol (Lond)* **394**, 149-172 (1987)
- 12) Aosaki T and Kasai H: Characterization of two kinds of high-voltage-activated Ca-channel currents in chick sensory neurons. *Pflugers Arch* **414**, 150-156 (1989)
- 13) Mintz IM, Adams ME and Bean BP: P-type calcium channels in rat central and peripheral neurons. *Neuron* **9**, 85-95 (1992)
- 14) Reuter H: Diversity and function of presynaptic calcium channels in the brain. *Curr Opin Neurobiol* **6**, 331-337 (1996)
- 15) Jenkinson DH: The nature of the antagonism between calcium and magnesium ions at the neuromuscular junction. *J Physiol (Lond)* **138**, 434-444 (1957)
- 16) Dodge FA and Rahamimoff R: Cooperative action of calcium ions in transmitter release at the neuromuscular junction. *J Physiol (Lond)* **193**, 419-432 (1967)
- 17) Augustine GJ and Charlton MP: Calcium dependence of presynaptic calcium current and post-synaptic response at the squid giant synapse. *J Physiol (Lond)* **381**, 619-640 (1986)
- 18) Takahashi T: The minimal inhibitory synaptic currents evoked in neonatal rat motoneurons. *J Physiol (Lond)* **450**, 593-611 (1992)
- 19) Dunlap K, Luebke JI and Turner TJ: Exocytotic Ca^{2+} channels in mammalian central neurons. *Trends Neurosci* **18**, 89-98 (1995)
- 20) Qian J and Noebels JL: Presynaptic Ca^{2+} channels and neurotransmitter release at the terminal of a mouse cortical neuron. *J Neurosci* **21**, 3721-3728 (2001)
- 21) Perez-Reyes E, Cribbs LL, Daud A, Lacerda AE, Barclay J, Williamson MP, Fox M, Rens M and Lee J-H: Molecular characterization of a neuronal low-voltage-activated T-type calcium channel. *Nature* **391**, 896-900 (1998)
- 22) 森 泰生, 若森 実: 脳神経科学イラストレイテッド. 森 寿, 真鍋俊也, 渡辺雅彦, 岡野栄之, 宮川 剛編, pp 145-151, 羊土社, 東京 (2000)
- 23) Wu L-G, Borst JGG and Sakmann B: R-type Ca^{2+} currents evoke transmitter release at a rat central synapse. *Proc Natl Acad Sci USA* **95**, 4720-4725 (1998)
- 24) Umemiyama M and Berger AJ: Activation of adenosine A_1 and A_2 receptors differentially modulates calcium channels and glycinergic synaptic transmission in rat brainstem. *Neuron* **13**, 1439-1446 (1994)
- 25) Hirasawa M, Kombian SB and Pittman QJ: Oxytocin retrogradely inhibits evoked, but not miniature, EPSCs in rat supraoptic nucleus: role of N- and P/Q-type calcium channels. *J Physiol (Lond)* **532**, 595-607 (2001)
- 26) Huang C-C, Lo S-W and Hsu K-S: Presynaptic mechanisms underlying cannabinoid inhibition of excitatory synaptic transmission in rat striatal neurons. *J Physiol (Lond)* **532**, 731-748 (2001)
- 27) Takahashi T, Forsythe ID, Tsujimoto T, Barnes-Davies M and Onodera K: Presynaptic calcium current modulation by a metabotropic glutamate receptor. *Science* **274**, 594-597 (1996)
- 28) Chaplan SR, Pogrel JW and Yaksh TL: Role of voltage-dependent calcium channel subtypes in experimental tactile allodynia. *J Pharmacol Exp Ther* **269**, 1117-1123 (1994)
- 29) Omote K, Kawamata M, Satoh O, Iwasaki H and Namiki A: Spinal antinociceptive action of an N-type voltage-dependent calcium channel blocker and the synergistic interaction with morphine. *An-*

- esthesiology **84**, 636-643 (1996)
- 30) Westenbroek RE, Hoskins L and Catterall WA: Localization of Ca^{2+} channel subtypes on rat spinal motor neurons, interneurons, and nerve terminals. *J Neurosci* **18**, 6319-6330 (1998)
- 31) Graybiel AM, Aosaki T, Flaherty AW and Kimura M: The basal ganglia and adaptive motor control. *Science* **265**, 1826-1831 (1994)
- 32) Obeso JA, Rodríguez-Oroz MC, Rodríguez M, Lanciego JL, Artieda J, Gonzalo N and Olanow CW: Pathophysiology of the basal ganglia in Parkinson's disease. *Trends Neurosci* **23**, Suppl, S 8-S19 (2000)

Abstract - Calcium channel subtypes mediating central synaptic transmission. Toshihiko MOMIYAMA (Division of Cerebral Structure, National Institute for Physiological Sciences, Myodaiji, Okazaki 444-8585, Japan). *Folia Pharmacol. Jpn.* (Nippon Yakurigaku Zasshi) **119**, 235 ~ 240 (2002)

It is well established that neurotransmitter release is triggered by Ca^{2+} entry into the presynaptic terminals through voltage-dependent Ca^{2+} channels. In the mammalian central nervous system, multiple types of Ca^{2+} channels including N-type, P/Q-type and other types mediate fast synaptic transmission. Electrophysiological studies using type-specific antagonists for Ca^{2+} channels have estimated the relative contribution of N-, P/Q- and other types of Ca^{2+} channels in excitatory and inhibitory synaptic transmission in the hippocampus, cerebellum, spinal cord, brain stem, and striatum. A recent study has demonstrated that activation of presynaptic dopamine D_2 -like receptors selectively block N-type Ca^{2+} channels to reduce GABA release onto cholinergic interneurons in the rat striatum. In addition, it has been recently clarified that the contribution of N-type Ca^{2+} channels to synaptic transmission is restricted to the early postnatal period at synapses in auditory brain stem, cerebellum, or thalamus. Advanced morphological studies are necessary for the further understanding of the subcellular localization of each subtype of Ca^{2+} channels and receptors modulating the transmitter release through Ca^{2+} channel activity in relation to the release sites in the presynaptic terminals.

Keywords: synaptic transmission; calcium channels; N-type; P/Q-type; developmental change

著者プロフィール

靱山 俊彦 (もみやま としひこ)

岡崎国立共同研究機構・生理学研究所・大脳皮質機能研究系・脳形態解析研究部門，助教授，医学博士。

1988 年京都大学医学部卒業，'90 年同大学院医学研究科博士課程中退，京都大学医学部助手（薬理学第二講座），'94 年 University College London 研究員（Department of Pharmacology），'96 年長崎大学医学部助手（生理学第二講座），'99 年岡崎国立共同研究機構・生理学研究所・助教授（大脳皮質機能研究系・脳形態解析研究部門）。現在に至る。研究テーマ：大脳基底核および中脳辺縁系のシナプス伝達修飾機構。

趣味：落語鑑賞および関連書籍・文献の収集，江戸ことばの研究・保存。

主な著書：脳神経科学イラストレイテッド（羊土社，2000 年，共著）。