

京都大学	博士（薬科学）	氏名	永井佑茉
論文題目	情動行動を司る背側縫線核セロトニン神経の役割に関する研究		
<p>（論文内容の要旨）</p> <p>不安や喜びといった情動の制御は個体の生存に必須であり、情動制御機構の破綻はうつ病をはじめとする精神疾患の発症要因となることが知られている。様々な情動制御機構や精神疾患の発症メカニズムを神経回路レベルで明らかにするには、特定の神経回路の活性のみを亢進あるいは減弱させた際にいかなる行動の変化が生じるかを個々に明らかにすることが重要である。近年、微生物由来の光感受性タンパク質であるチャンネルロドプシン 2 (ChR2) 等を特定の神経細胞に発現させ、光によりその神経活動を亢進/抑制する光遺伝学技術が急速に発展している。しかし特定の神経細胞に ChR2 を発現させるツールは齧歯類では広く使用されているものの、非ヒト霊長類ではほとんど開発されていない。そこで第 1 章では非ヒト霊長類のゲノム配列を使用し、特定の神経細胞に外来遺伝子の発現を可能にするツールの開発を行った。また数ある脳内の神経の中でも背側縫線核を起始核としたセロトニン神経回路は精神疾患の発症・治療において重要な役割を果たしていることが知られている。しかし背側縫線核のセロトニン神経は多様な神経接続及び機能を有し、どの亜集団がいかなる情動の制御に関与しているのかは依然として不明なままである。そこで第 2 章においては嗜好/嫌悪の調整、第 3 章においては抗うつ作用をそれぞれ司るセロトニンの神経の同定とそのメカニズムの解明を目指して以下の検討を行った。</p> <p>第 1 章 サルゲノム中の神経細胞種特異的プロモーター配列の同定</p> <p>特定の神経細胞種に対する特異性と発現量はプロモーター配列に大きく依存することが知られている。そこで本研究では、非ヒト霊長類の一種であるマカクサルのゲノム配列を使用し複数の神経細胞種に特異的かつ高活性なプロモーター配列の同定を、マウス脳をモデルとして行った。その結果、大脳皮質介在神経の亜集団のマーカであるソマトスタチンなど 8 種類の細胞種に対して 80%以上という高い特異性を有するプロモーター配列の同定に成功した。</p> <p>第 2 章 嗜好/嫌悪の調節における背側縫線核セロトニン神経の役割の解明</p> <p>脳内報酬系は個体の生存に必須の脳神経系の一つであり、その機能破綻はうつ病などの精神疾患患者でも見られる無快感症の原因ともなることから、その詳細なメカニズム解明は急務である。従来、脳内報酬系の中核を担っていると考えられてきたのは腹側被蓋野ドパミン神経である。一方で近年、気分調節や不安などの情動機能の制御に関わる背側縫線核セロトニン神経回路の活動亢進が報酬効果を有する可能性が示唆されているものの否定する報告もなされており、その詳細は未だ不明である。そこで本研究では、セロトニン神経特異的に外来遺伝子を高発現させ得るアデノ随伴ウイルスベクター (AAV) を作製するとともに光遺伝学的手法を用いて、背側縫線核セロトニン神経の活動変化が報酬関連行動に与える影響を検討した。青色光により神経活動を亢進させ得る CheRiff、および緑色光で神経活動を抑制するこ</p>			

とができる eArchT を用いて背側縫線核セロトニン神経活動を特異的に亢進/減弱させた際の報酬系に与える影響をオペラント条件付け試験と条件付け場所嗜好性試験により検討した。その結果、背側縫線核セロトニン神経の活動亢進は光活性と関連付けられたノーズポーク行動の回数および光活性と関連付けられた区域での滞在時間を有意に増加させた。またこれらの効果は腹側被蓋野に投射するセロトニン神経を光活性化させた際にも見出された。一方、背側縫線核セロトニン神経あるいは腹側被蓋野のセロトニン神経終末の光抑制は顕著な場所嫌悪性を誘発した。以上の結果は腹側被蓋野に投射する背側縫線核セロトニン神経活動が嗜好/嫌悪のバランスを決定していることを強く示唆している。

第3章 抗うつ作用を司る背側縫線核セロトニン神経回路の解明

うつ病は長期的な快楽の喪失や意欲の低下などを主症状とする精神疾患である。その治療薬として選択的セロトニン再取り込み阻害薬が使用されることから、うつ病の発症・消失にセロトニン神経が重要な働きを担っていることが示唆されている。しかし脳全体に投射する背側縫線核セロトニン神経のうち、抗うつ作用に関与している投射領域はどこなのか、その投射先でどのような機構で抗うつ作用が惹起されているのかは不明である。本章では第2章で作製したAAVを用いて、抗うつ作用を司るセロトニン神経回路の解明を目指し検討を行った。その結果、うつ病モデルマウスとして繁用される社会的敗北ストレスを負荷したマウスにおいて、背側縫線核あるいは背側縫線核から腹側被蓋野に投射するセロトニン神経の光活性化を行うことで抗うつ作用が生じることが明らかとなった。その神経メカニズムについて組織化学的手法で検討したところ、セロトニン神経の活性化により海馬歯状回において過去の楽しい体験の時に活性化した神経細胞群（快体験関連神経細胞群）が再活性化されることが明らかとなった。さらに薬理的な検討を行った結果、背側縫線核から腹側被蓋野に投射しているセロトニン神経の光活性化による抗うつ効果、および快体験関連神経細胞群の優先的な再活性化はドパミン受容体を介したものであることが明らかになった。

以上、申請者は神経細胞種特異的な光遺伝学的介入手法の開発を通じ、背側縫線核から腹側被蓋野に投射しているセロトニン神経が嗜好と嫌悪の制御だけでなく抗うつ作用をも司る神経回路であることを明らかにした。これらの知見は、薬物依存症やうつ病などの精神疾患の新規治療薬の開発に資する基礎的知見を提供するものである。

※ 学位授与された方の「論文内容の要旨」、「論文審査結果の要旨」（審査教員作成）は、学位授与日から3ヶ月以内に京都大学学術情報リポジトリに掲載され公開されます。学位申請を行う方は掲載を承認されたものとします。

(論文審査の結果の要旨)

不安や喜びといった情動の制御は個体の生存に必須であり、情動制御機構の破綻はうつ病をはじめとする精神疾患の発症要因となることが知られている。様々な情動制御機構や精神疾患の発症メカニズムを神経回路レベルで明らかにするには、特定の神経回路の活性のみを亢進あるいは減弱させた際にいかなる行動の変化が生じるかを個々に明らかにすることが重要である。近年、微生物由来の光感受性タンパク質であるチャネルロドプシン 2 (ChR2) 等を特定の神経細胞に発現させ、光によりその神経活動を亢進/抑制する光遺伝学技術が急速に発展している。しかし特定の神経細胞に ChR2 を発現させるツールは齧歯類では広く使用されているものの、非ヒト霊長類ではほとんど開発されていない。そこで第 1 章では非ヒト霊長類のゲノム配列を使用し、特定の神経細胞に外来遺伝子の発現を可能にするツールの開発を行った。また数ある脳内の神経の中でも背側縫線核を起始核としたセロトニン神経回路は精神疾患の発症・治療において重要な役割を果たしていることが知られている。しかし背側縫線核のセロトニン神経は多様な神経接続及び機能を有し、どの亜集団がいかなる情動の制御に関与しているのかは依然として不明なままである。そこで本研究では第 2 章においては嗜好/嫌悪の調整、第 3 章においては抗うつ作用をそれぞれ司るセロトニンの神経の同定とそのメカニズムの解明を目指して以下の検討を行った。

第 1 章 サルゲノム中の神経細胞種特異的プロモーター配列の同定

特定の神経細胞種に対する特異性と発現量はプロモーター配列に大きく依存することが知られている。そこで本研究では、非ヒト霊長類の一種であるマカクサルのゲノム配列を使用し複数の神経細胞種に特異的かつ高活性なプロモーター配列の同定を、マウス脳をモデルとして行った。その結果、大脳皮質介在神経の亜集団のマーカであるソマトスタチンなど 8 種類の細胞種に対して 80%以上という高い特異性を有するプロモーター配列の同定に成功した。

第 2 章 嗜好/嫌悪の調節における背側縫線核セロトニン神経の役割の解明

脳内報酬系は個体の生存に必須の脳神経系の一つであり、その機能破綻はうつ病などの精神疾患患者でも見られる無快感症の原因ともなることから、その詳細なメカニズム解明は急務である。従来、脳内報酬系の中核を担っていると考えられてきたのは腹側被蓋野ドパミン神経である。一方で近年、気分調節や不安などの情動機能の制御に関わる背側縫線核セロトニン神経回路の活動亢進が報酬効果を有する可能性が示唆されているものの否定する報告もなされており、その詳細は未だ不明である。そこで本研究では、セロトニン神経特異的に外来遺伝子を高発現させ得るアデノ随伴ウイルスベクター (AAV) を作製するとともに光遺伝学的手法を用いて、背側縫線核セロトニン神経の活動変化が報酬関連行動に与える影響を検討した。青色光により神経活動を亢進させ得る CheRiff、および緑色光で神経活動を抑制するこ

とができる eArchT を用いて背側縫線核セロトニン神経活動を特異的に亢進/減弱させた際の報酬系に与える影響をオペラント条件付け試験と条件付け場所嗜好性試験により検討した。その結果、背側縫線核セロトニン神経の活動亢進は光活性と関連付けられたノーズポーク行動の回数および光活性と関連付けられた区域での滞在時間を有意に増加させた。またこれらの効果は腹側被蓋野に投射するセロトニン神経を光活性化させた際にも見出された。一方、背側縫線核セロトニン神経あるいは腹側被蓋野のセロトニン神経終末の光抑制は顕著な場所嫌悪性を誘発した。以上の結果は腹側被蓋野に投射する背側縫線核セロトニン神経活動が嗜好/嫌悪のバランスを決定していることを強く示唆している。

第3章 抗うつ作用を司る背側縫線核セロトニン神経回路の解明

うつ病は長期的な快楽の喪失や意欲の低下などを主症状とする精神疾患である。その治療薬として選択的セロトニン再取り込み阻害薬が使用されることから、うつ病の発症・消失にセロトニン神経が重要な働きを担っていることが示唆されている。しかし脳全体に投射する背側縫線核セロトニン神経のうち、抗うつ作用に関与している投射領域はどこなのか、その投射先でどのような機構で抗うつ作用が惹起されているのかは不明である。本章では第2章で作製したAAVを用いて、抗うつ作用を司るセロトニン神経回路の解明を目指し検討を行った。その結果、うつ病モデルマウスとして繁用される社会的敗北ストレスを負荷したマウスにおいて、背側縫線核あるいは背側縫線核から腹側被蓋野に投射するセロトニン神経の光活性化を行うことで抗うつ作用が生じることが明らかとなった。その神経メカニズムについて組織化学的手法で検討したところ、セロトニン神経の活性化により海馬歯状回において過去の楽しい体験の時に活性化した神経細胞群（快体験関連神経細胞群）が再活性化されることが明らかとなった。さらに薬理的な検討を行った結果、背側縫線核から腹側被蓋野に投射しているセロトニン神経の光活性化による抗うつ効果、および快体験関連神経細胞群の優先的な再活性化はドパミン受容体を介したものであることが明らかになった。

以上、申請者は神経細胞種特異的な光遺伝学的介入手法の開発を通じ、背側縫線核から腹側被蓋野に投射しているセロトニン神経が嗜好と嫌悪の制御だけでなく抗うつ作用をも司る神経回路であることを明らかにした。これらの知見は、薬物依存症やうつ病などの精神疾患の新規治療薬の開発に資する基礎的知見を提供するものである。

よって、本論文は博士（薬科学）の学位論文として価値あるものと認める。また、令和4年2月17日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。

要旨公表可能日： 年 月 日以降