

氏名	よし だ たか し 吉 田 盛 史
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学位記番号	理 博 第 3067 号
学位授与の日付	平成 18 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	理学研究科生物科学専攻
学位論文題目	グルタミン酸受容体 $\delta 2$ サブユニットノックアウトマウスにおける運動制御異常の神経機構の解析
論文調査委員	(主 査) 教授 平野 丈夫 教授 藤吉 好則 教授 阿形 清和

### 論 文 内 容 の 要 旨

小脳皮質は運動制御・学習に重要な役割を果たす。ミュータントマウスを用いた解析により小脳皮質におけるシナプス形成・可塑性の異常は運動制御・学習の障害を伴うことが示されている。グルタミン酸受容体  $\delta 2$  サブユニットは、小脳皮質唯一の出力細胞であるプルキンエ細胞で特異的に発現している。プルキンエ細胞は平行線維と登上線維という 2 種類の興奮性入力を受けており、グルタミン酸受容体  $\delta 2$  サブユニットノックアウトマウス( $\delta 2$  ノックアウトマウス)では平行線維・登上線維 - プルキンエ細胞間シナプスでのシナプス形成・可塑性の異常や運動障害が認められる。本研究では  $\delta 2$  ノックアウトマウスを用いて、シナプスでの異常がどのようにして神経活動に影響を与え、その神経活動がいかんして運動障害を引き起こしているかを解析することにより、小脳皮質でのシナプス制御が神経活動及び個体行動の制御において、いかなる役割を担っているかを検討した。

全身の平衡感覚及び協調運動を調べたところ、 $\delta 2$  ノックアウトマウスは野生型マウス及びプルキンエ細胞を欠損している *lurcher* マウスに比べ重度の障害を示した。次に、詳細に運動制御を解析する目的で定量性に優れた眼球運動の解析を行った。野生型マウスでは刺激が無い状態で眼球は静止していたのに対し、 $\delta 2$  ノックアウトマウスは不随意の自発性眼球運動を示した。不随意運動は運動失調の原因になり得ると考えられたので、この自発性眼球運動に着目して解析を進めた。 $\delta 2$  ノックアウトマウスの自発性眼球運動は約 1Hz と 10Hz の周期性を示した。そして眼球運動制御に関わる小脳皮質の片葉を破壊したところ約 10Hz 成分が消失した。また生体内での片葉プルキンエ細胞活動の記録を行ったところ、登上線維入力に由来する複雑スパイクの発火が約 1Hz 及び 10Hz の周期性を示し、自発性眼球運動と同期していた。これらの結果は  $\delta 2$  ノックアウトマウスにおいて登上線維入力の亢進が不随意運動の原因となっていることを示唆している。次に、前庭動眼反射 (VOR) 及び視運動性眼球運動 (OKR) という 2 種類の反射性眼球運動を解析した。 $\delta 2$  ノックアウトマウスでは VOR・OKR にも異常が認められた。その中でも OKR のタイミングの遅れが大きいことに注目し、その原因となる神経機構を調べるために、OKR 中の片葉プルキンエ細胞活動を記録した。 $\delta 2$  ノックアウトマウスでは平行線維入力を反映する単純スパイク及び登上線維入力に由来する複雑スパイクの発火のタイミングは正常であったが、複雑スパイクの発火頻度が大きく、両スパイクのバランスが崩れていた。そのバランスの崩れが視覚入力に対するプルキンエ細胞全体としての発火頻度変化のタイミングを遅らせていた。そして、このスパイク活動のタイミング遅れは OKR のタイミング遅れとよく対応したことから、これが OKR 異常の原因と考えられた。以上の結果は、 $\delta 2$  ノックアウトマウスではプルキンエ細胞への登上線維入力の亢進が不随意的な自発性眼球運動及び反射性眼球運動の異常を引き起こしていることを示唆するものである。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

小脳皮質は運動制御・運動学習にかかわる脳部位であるが、その神経回路内外でのいかなる情報処理により滑らかな運動制御が達成されているかは不明である。小脳皮質神経回路の情報処理機構を解明するための一つのアプローチとしてミュー

タントマウスを用いる解析が考えられる。運動制御・運動学習障害を示すいくつかのミュータントマウス系統が報告されている。その中で、申請者はグルタミン酸受容体  $\delta 2$  サブユニットに注目した。グルタミン酸受容体  $\delta 2$  サブユニットは、小脳皮質唯一の出力細胞であるプルキンエ細胞で特異的に発現している。プルキンエ細胞は平行線維と登上線維という2種類の興奮性入力を受けるが、グルタミン酸受容体  $\delta 2$  サブユニットはそのうち平行線維とのシナプスに局限して存在し、そのノックアウトマウス( $\delta 2$  ノックアウトマウス)では、平行線維・登上線維-プルキンエ細胞間でのシナプス形成・可塑性の異常および運動障害が認められる。この研究では、こうした  $\delta 2$  ノックアウトマウスを用いて、シナプスでの異常がどのようにして神経活動に影響を与え、さらにそれがいかにして運動障害を引き起こすかを解析することにより、小脳皮質でのシナプス制御が神経活動及び個体行動制御において果たす役割の検討を行った。

全身の平衡感覚及び協調運動を調べたところ、 $\delta 2$  ノックアウトマウスは野生型マウス及びプルキンエ細胞を欠損している *lurcher* マウスより重度の障害を示すことが明らかになった。また  $\delta 2$  ノックアウトマウスは不随意の自発性眼球運動も示した。不随意運動は正常の運動制御を妨げると考えられるので、申請者は不随意運動が生じるメカニズムを解析した。そして、 $\delta 2$  ノックアウトマウスでは登上線維入力が増進していて、それが不随意運動と同期しその原因となっていることを突き止めた。登上線維入力増進は細胞・組織レベルの知見にもとづき説明可能な現象であることから、分子・細胞・神経回路・個体の行動を統合した形で運動制御異常のメカニズムが明らかになった。また、前庭動眼反射 (VOR) 及び視運動性眼球運動 (OKR) という2種類の反射性眼球運動解析も行い、 $\delta 2$  ノックアウトマウスでは VOR・OKR にも異常が認められることを示した。さらに、その中で OKR のタイミングの遅れが大きいことに注目し、その原因となる神経機構を調べた。そして、ここでも登上線維入力が増進による2種類の興奮性シナプス入力バランスの崩れが OKR タイミング遅れの原因となっていることを示唆した。

本論文では以上のように、小脳皮質神経回路内の情報処理機構において登上線維入力活動レベルの維持が重要であることを明らかにしている。報告された知見は小脳の情報処理機構の解明に寄与する重要な成果と評価できる。したがって、本論文は博士(理学)の学位として価値あるものと認められる。また、論文内容とそれに関連した試問を行い、合格と認めた。