

京都大学	博士（医学）	氏名	西岡忠昭
論文題目	Chemogenetic Suppression of the Subthalamic Nucleus Induces Attentional Deficits and Impulsive Action in a Five-Choice Serial Reaction Time Task in Mice (化学遺伝学的手法による視床下核の選択的神経活動抑制は注意力低下と衝動性行動を誘発する)		
(論文内容の要旨)			
<p>視床下核 (subthalamic nucleus, STN) は、大脳皮質・大脳基底核回路を構成する神経核の一つであり、ハイパー直接路を介して、運動野のみならず広範な大脳皮質領域からの入力と、間接路を介した淡蒼球からの入力を統合し、淡蒼球内節や黒質網様部へ出力する。パーキンソン病患者に対する STN の脳深部刺激 (deep brain stimulation, DBS) が運動機能を改善する一方で、衝動性等の行動制御に関する認知機能 (実行機能, executive function) に影響することが報告されて以来、STN は、運動制御のみならず、非運動性認知プロセスにも重要な役割を担っていると考えられている。しかしながら、STN の認知プロセスにおける役割については不明な点が多い。その理由として、STN が、脳深部に位置し複雑な形態を有する神経核であるため、従来の電氣的刺激や薬剤による神経活動操作や破壊実験では、周囲の脳領域と正確に区別して STN の機能を調べるのが困難であることが挙げられる。さらに、STN の不可逆的な破壊・遺伝子操作により、黒質緻密部や線条体等の他の脳領域の興奮性・可塑性が間接的に変化することが近年報告されている。したがって、このような STN による他の脳領域に対する間接的な作用と区別して、STN がどのような認知機能と直接的に関わっているか研究する手法を確立することが重要である。</p> <p>これらの問題点を回避するために、化学遺伝学的手法 (chemogenetics) により、薬剤投与依存的に STN の神経活動を選択的かつ可逆的に操作する技術開発を行った。内因性リガンドに反応しない改変型ムスカリン性アセチルコリン受容体 (hM4Di) を Cre リコンビナーゼ依存的に発現する AAV ウイルスベクターを、STN の発生に必須である転写因子 pitx2 遺伝子座に Cre リコンビナーゼをノックインしたマウス系統の STN に定位脳手術により導入した (hM4Di マウス)。hM4Di に対する人工リガンドである CNO の効果をスライス・パッチクランプ法により解析したところ、hM4Di を発現する STN 神経細胞では、CNO 投与依存的な膜電位の低下、電流注入による活動電位応答の減少が観察された。以上の電気生理学的解析により、hM4Di マウスでは、CNO 投与依存的に STN 神経細胞の神経活動が選択的に抑制されることを明らかにした。</p> <p>次に化学遺伝学的な STN の神経活動抑制の行動制御に関わる認知機能への影響を解析するために、一定の潜時の後に視覚刺激 (5 つのタッチスクリーンのうち 1 つが 0.8 秒～2 秒間点灯) が提示される 5 選択反応時間課題を実施した。その結果、注意に関する認知機能に関して、持続的注意の指標である正答率は、hM4Di マウス群で CNO 投与依存的に有意に低下したが、全体的注意の指標である無反応試行には影響がなかった。一方、刺激提示に対する反応制御について、衝動性の指標である尚早反応は、hM4Di マウス群で CNO 投与依存的に有意に増加したが、固執性の指標となる固執的反応には影響がなかった。また hM4Di マウス群の持続的注意や衝動性に対する CNO の効果は、</p>			

投与 24 時間後には消失した。すなわち、STN の神経活動の選択的かつ可逆的な抑制により、特定の注意および反応制御が障害されることが明らかとなった。

以上の結果は、STN が、シナプスを介した直接的な神経情報伝達により、実行機能と包括される認知機能の中で、注意や反応制御に関する特定の認知サブプロセスを制御している可能性を示唆する。

(論文審査の結果の要旨)

視床下核 (STN) の脳深部刺激がパーキンソン病における運動障害を改善する一方で、衝動性の増加など認知障害を引き起こすことが報告されて以来、STN と認知機能の関係性に注目が集まっている。しかし、その詳細については不明な点が多い。本研究では、STN の神経活動がどのように認知機能に寄与するかを明らかにするために、化学遺伝学的手法により STN の神経活動を選択的かつ可逆的に操作し、認知行動課題への影響を解析した。STN 選択的に Cre 組換え酵素を発現する Pitx2-Cre マウスにウイルスベクターを注入して、STN 選択的に改変型アセチルコリン受容体 hM4Di を発現させて、その合成リガンド投与により、生体の STN の神経活動を選択的かつ可逆的に抑制することに成功した。次に、化学遺伝学的な STN の神経活動抑制が認知機能に与える影響を解析するために、一定の潜時の後に視覚刺激が提示される 5 選択反応時間課題を実施した。その結果、STN の抑制は持続的注意力の指標である正答率を低下させたが、全体的注意力の指標である無反応試行には影響を与えなかった。さらに、STN の抑制は衝動性の指標である尚早反応は増加させたが、固執性の指標となる固執的反応には影響を与えないことが明らかになった。

以上の研究は認知機能における STN の役割の解明に貢献し、大脳基底核回路異常による認知障害の病態メカニズムの理解に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、令和 2 年 8 月 6 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。