

京都大学	博士（薬学）	氏名	河合 洋幸
論文題目	報酬および疼痛制御を担う神経機構に関する研究		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>報酬により生起される快情動や、痛みなどの罰刺激により生起される不快情動は、個体の生存に必須の要素である。一方、それらの過剰な生起は薬物依存症やうつ病、慢性疼痛など様々な疾患においても観察されることから、その詳細な神経機構の解明は、疾患の生物学的理解に基づく創薬の観点から重要である。本研究の第一章では、高い有効性を持つもののその作用機構に未解明の部分が多い鎮痛薬ノイロトロピンの後根神経節に対する作用を検討した。一方、中枢神経系においてはセロトニン神経が快/不快情動の双方に関与することが薬理的検討から示唆されているものの、多数存在するセロトニン神経核それぞれの役割については未だ明らかになっていない。そこで第二章では、セロトニン神経核の一つである正中縫線核のセロトニン神経に着目し、選択的な活動計測および活動への介入を用いた解析を行った。</p> <p>第一章 初代培養後根神経節神経の電気生理学的特性に対するノイロトロピンの作用解析  ワクシニアウイルスを接種した家兎の炎症皮膚抽出液含有製剤であるノイロトロピン (NTP) は、神経障害性疼痛に対する鎮痛薬として臨床使用されている。作用の一つとしてセロトニン神経をはじめとする下行性疼痛抑制系の賦活化が知られているが、下行性疼痛抑制系を障害した中枢性神経障害性疼痛モデルにも有効であるなど、その多様な薬理作用の全容は未解明である。神経障害性疼痛は末梢神経である後根神経節 (DRG) 神経の過活動がその一因であることから、NTPのDRG神経に対する活動調節作用について検討した。ラットから単離した初代培養DRG神経において、NTPの3日間の持続処置は電流注入により誘発される神経発火を抑制した。また、発火閾値についてもNTP持続処置により上昇していた。これらの現象の背景にある分子機構について、<math>K^+</math>チャネル機能調節作用に着目して検討した。その結果、NTPは電位依存性カリウム (<math>K_v</math>) チャネル電流の持続性成分を選択的に増強させることを見出した。DRG神経に発現する<math>K^+</math>チャネルの機能低下は神経障害性疼痛の原因となることから、NTPによる持続性<math>K_v</math>チャネル電流増強がその鎮痛効果の背景にあることが示唆される。</p> <p>第二章 正中縫線核セロトニン神経の報酬/罰刺激情報処理における役割の解明  セロトニン神経核の一つである正中縫線核は、報酬情報処理過程における重要性が示唆されているものの細胞種特異的な検討が難しく、報酬や罰刺激に対するセロトニン神経の応答やその生理的役割については未だ明らかになっていない。そこで本章では、光照射により細胞種特異的な活動計測/調節を可能にする光遺伝学的手法を用いて、正中縫線核セロトニン神経の報酬/罰刺激情報処理における役割について検討した。セロトニン合成酵素であるTph2遺伝子プロモーターを用いることで、マウス正中縫線核セロトニン神経特異的に蛍光<math>Ca^{2+}</math>プローブであるGCaMP遺伝子を発現させた。脳内に留置した光ファイバーを介して励起光を照射し、神経活動に伴う細胞内<math>Ca^{2+}</math>変動をGCaMP蛍光として検出することで細胞種選択的な活動測定を可能とした。このファイバーフォトメトリー法を用いて、報酬刺激として作用するスクロース水と罰刺激として作用するテールピンチ刺激を与えた際の神経応答を記録し</p>			

た。その結果、スクロース水摂取により正中縫線核セロトニン神経活動の低下が、テールピンチ刺激によりその亢進がそれぞれ生じることが明らかになった。さらに、青色光により神経活動を亢進させ得るCheRiff、および緑色光により神経活動を抑制し得るeArchTを用いて上記の活動変動を光遺伝学的手法により模倣した。その結果、正中縫線核セロトニン神経活動の抑制は条件付け場所嗜好性試験において報酬様の作用を、活動の亢進は条件付け場所嫌悪性試験において罰刺激様の作用をそれぞれ有することを見出した。さらに投射先選択的な活動計測および活動介入を行った結果、脚間核に投射する正中縫線核セロトニン神経が上記の報酬/罰刺激情報処理作用を担うことを見出した。加えて、上記作用を媒介するセロトニン受容体サブタイプについて薬理学的手法で検討した結果、脚間核5-HT<sub>2A</sub>受容体の活性化が罰刺激様の作用の発現に必要であることを明らかにした。これらの結果は脚間核に投射する正中縫線核セロトニン神経が脚間核5-HT<sub>2A</sub>受容体を介して報酬/罰刺激情報処理の中核を担っていることを示唆している。

以上、著者は電気生理学的手法により、神経障害性疼痛治療薬ノイロトロピンの新規作用機序として、持続性K<sub>v</sub>チャネル電流増強を介したDRG神経活動の抑制作用を見出した。また光遺伝学的解析により、正中縫線核セロトニン神経の脚間核5-HT<sub>2A</sub>受容体を介した報酬/罰情報処理機構を見出した。上記の知見は、神経障害性疼痛や依存症、うつ病の病態解明および新薬の創出に資する基礎的知見となるものである。

※ 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)

報酬により生起される快情動や、痛みなどの罰刺激により生起される不快情動は、個体の生存に必須の要素である。一方、それらの過剰な生起は薬物依存症やうつ病、慢性疼痛など様々な疾患においても観察されることから、その詳細な神経機構の解明は、疾患の生物学的理解に基づく創薬の観点から重要である。本研究の第1章では、高い有効性を持つもののその作用機構に未解明の部分が多い鎮痛薬ノイロトロピンの後根神経節に対する作用を検討した。一方、中枢神経系においてはセロトニン神経が快/不快情動の双方に関与することが薬理的検討から示唆されているものの、多数存在するセロトニン神経核それぞれの役割については未だ明らかになっていない。そこで第2章では、セロトニン神経核の一つである正中縫線核のセロトニン神経に着目し、選択的な活動計測および活動への介入を用いた解析を行った。

### 第1章 初代培養後根神経節神経の電気生理学的特性に対するノイロトロピンの作用解析

ワクシニアウイルスを接種した家兎の炎症皮膚抽出液含有製剤であるノイロトロピン (NTP) は、神経障害性疼痛に対する鎮痛薬として臨床使用されている。作用の一つとしてセロトニン神経をはじめとする下行性疼痛抑制系の賦活化が知られているが、下行性疼痛抑制系を障害した中枢性神経障害性疼痛モデルにも有効であるなど、その多様な薬理作用の全容は未解明である。神経障害性疼痛は末梢神経である後根神経節 (DRG) 神経の過活動がその一因であることから、NTPのDRG神経に対する活動調節作用について検討した。ラットから単離した初代培養DRG神経において、NTPの3日間の持続処置は電流注入により誘発される神経発火を抑制した。また、発火閾値についてもNTP持続処置により上昇していた。これらの現象の背景にある分子機構について、 $K^+$ チャネル機能調節作用に着目して検討した。その結果、NTPは電位依存性カリウム ( $K_v$ ) チャネル電流の持続性成分を選択的に増強させることを見出した。DRG神経に発現する $K^+$ チャネルの機能低下は神経障害性疼痛の原因となることから、NTPによる持続性 $K_v$ チャネル電流増強がその鎮痛効果の背景にあることが示唆される。

### 第2章 正中縫線核セロトニン神経の報酬/罰刺激情報処理における役割の解明

セロトニン神経核の一つである正中縫線核は、報酬情報処理過程における重要性が示唆されているものの細胞種特異的な検討が難しく、報酬や罰刺激に対するセロトニン神経の応答やその生理的役割については未だ明らかになっていない。そこで本章では、光照射により細胞種特異的な活動計測/調節を可能にする光遺伝学的手法を用いて、正中縫線核セロトニン神経の報酬/罰刺激情報処理における役割について検討した。セロトニン合成酵素であるTph2遺伝子プロモーターを用いることで、マウス正中縫線核セロトニン神経特異的に蛍光 $Ca^{2+}$ プローブであるGCaMP遺伝子を発現させた。脳内に留置した光ファイバーを介して励起光を照射し、神経活動に伴う細胞内 $Ca^{2+}$ 変動をGCaMP蛍光として検出することで細胞種選択的な活動測定を可能とした。このファイバーフォトメトリー法を用いて、報酬刺激として作用するスクロース水と罰刺激として作用するテールピンチ刺激を与えた際の神経応答を記録した。その結果、スクロース水摂取により正中縫線核セロトニン神経活動の低下が、テールピンチ刺激によりその亢進がそれぞれ生じることが明らかになった。さらに、青色光により神経活動を亢進させ得るCheRiff、および緑色光により神経活動を抑制し得るeArchTを用いて上記の活動変動を光遺伝学的手法により模倣した。その結果、正中縫線核セロトニン神経活動の抑制は条件付け場所嗜好性試験において報酬様の作用を、活動の亢進は条件付け場所嫌悪性試験において罰刺激様の作用をそれぞれ有することを見出した。さらに投射先選択的な活動計

測および活動介入を行った結果、脚間核に投射する正中縫線核セロトニン神経が上記の報酬/罰刺激情報処理作用を担うことを見出した。加えて、上記作用を媒介するセロトニン受容体サブタイプについて薬理学的手法で検討した結果、脚間核5-HT<sub>2A</sub>受容体の活性化が罰刺激様の作用の発現に必要であることを明らかにした。これらの結果は脚間核に投射する正中縫線核セロトニン神経が脚間核5-HT<sub>2A</sub>受容体を介して報酬/罰刺激情報処理の中核を担っていることを示唆している。

以上、申請者は電気生理学的手法により、神経障害性疼痛治療薬ノイロトロピンの新規作用機序として、持続性K<sub>v</sub>チャンネル電流増強を介したDRG神経活動の抑制作用を見出した。また光遺伝学的解析により、正中縫線核セロトニン神経の脚間核5-HT<sub>2A</sub>受容体を介した報酬/罰情報処理機構を見出した。上記の知見は、神経障害性疼痛や依存症、うつ病の病態解明および新薬の創出に資する基礎的知見となるものである。

よって、本論文は博士（薬学）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