

氏名（本籍）	九里 信夫		
学位の種類	博士（神経科学）		
学位記番号	博甲第	7397	号
学位授与年月	平成 27 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	Neuronal responses of primary motor cortex evoked by activation of dopamine neurons in the ventral midbrain: an optical imaging study 中脳ドーパミンニューロン賦活化により一次運動野皮質に誘発される神経活動の光学的解析		
主査	筑波大学教授	博士（理学）	松本正幸
副査	筑波大学教授	博士（医学）	一谷幸男
副査	筑波大学助教	博士（神経科学）	水挽貴至
副査	筑波大学准教授	博士（医学）	西丸広史

論文の内容の要旨

（目的）

中脳腹側部の腹側被蓋野、黒質、赤核後部に局在するドーパミン神経細胞は、大脳皮質や多くの皮質下構造に神経投射することが知られている。大脳皮質へのドーパミン神経投射は主に腹側被蓋野（Ventral tegmental area、以下 VTA）から生じており、前頭前野皮質に密な投射をすることなどから、認知機能との関係について多くの研究がなされてきた。一方、運動に関連する大脳皮質領域へのドーパミン投射については研究が進んでいない。近年、大脳皮質一次運動野（Primary motor cortex、以下 M1）が主に VTA からドーパミン神経投射を受けることが明らかとなった。本研究では、VTA ドーパミン神経の活性化が M1 にどのような神経活動を引き起こすのかを解析した。

（対象と方法）

本研究では、膜電位感受性色素を用いた光計測（以下、膜電位イメージング）、および、多点電極を用いた電氣的活動計測により、VTA を単一パルス刺激により賦活した際、M1 に惹起される神経活動の時空間パターンを解析した。膜電位イメージングは神経活動に伴う細胞膜電位変化をミリ秒単位の時間解像度で計測する手法であり、M1 領域に生じた神経活動を計測した。また、6-hydroxydopamine を VTA に注入することで作成したドーパミン神経損傷モデル動物を用い、VTA 電気刺激によって生じる神経活動がドーパミン神経に由来するものなのかを検証した。電氣的活動計測では、多点電極を M1 に刺入し、VTA 電気刺激によって生じる局所電場電位（Local field potential、以下 LFP）を各皮質層から計測することによって、興奮性シナプス入力の生じた皮質層を推定した。さらに、VTA の賦活化が筋活動に与

える影響についても検証した。

(結果)

まず、VTA を電気刺激し、M1 において膜電位イメージングを行なった。VTA の単一パルス刺激は短潜時の興奮性神経活動を惹起した。興奮応答は刺激から 15 ミリ秒後に生じ、約 80 ミリ秒後に消失した。また、興奮性神経応答消失後、抑制性応答が数百ミリ秒間継続した。これらの神経活動は上肢運動領域で特に強く生じていた。薬理学的実験において、興奮性応答は AMPA/KA 型グルタミン酸受容体アンタゴニスト (CNQX) の投与により消失し、抑制性応答は GABA_A 受容体アンタゴニスト (Bicuculline) および CNQX によって消失した。また、ドーパミン神経損傷モデル動物では、興奮・抑制性応答共に誘発されなかった。これらの結果は、ドーパミン神経の賦活化が、グルタミン酸と GABA による興奮-抑制性の神経活動を M1 に誘発することを示唆している。また、抑制性応答は Bicuculline だけでなく CNQX によっても消失したことから、先に生じた興奮性応答によって抑制性の M1 神経細胞が活性化され、その結果として生じたものと推測される。

次に、多点電極を用いた電氣的活動計測の結果、VTA 刺激後、M1 の皮質第 5 層に最初の興奮性シナプス入力が生じ、続いて皮質 2/3 層、6 層へと神経活動が伝播している可能性が示された。

最後に、VTA 活性化が筋活動に与える影響について検証した。M1 刺激により対側上肢に誘発された筋活動は、M1 刺激の 10 ミリ秒前に VTA を電気刺激することにより促進された。一方、M1 刺激の 40 ミリ秒前に VTA を刺激した場合では抑制された。消失した筋電応答は、刺激間隔を延長することで再度出現し、100 ミリ秒の刺激間隔では、コントロール同様であった。これらの結果は、M1 刺激によって誘発される筋活動が、VTA を刺激するタイミングに依存して促進 (あるいは抑制) されることを示している。

(考察)

本研究により、VTA 賦活化が M1 に短潜時の興奮-抑制性神経応答を誘発することが明らかとなった。ドーパミン神経損傷モデル動物において上記神経活動が誘発されなかったことから、これらの神経応答はドーパミン神経に由来するものと推測される。一方、計測された興奮-抑制性神経応答は、それぞれグルタミン酸と GABA の放出によって生じていた。ドーパミン神経系による素早い情報伝達機構の存在は、これまでに前頭前野や側坐核を始めとする領域で報告されている。また、中脳ドーパミン神経がドーパミンとグルタミン酸を共放出することが報告されており、本研究で計測された興奮性神経応答は、ドーパミン神経から共放出されたグルタミン酸によって生じている可能性がある。筋電計測の結果は、VTA 賦活化が筋出力を調節し得ることを示しており、ドーパミン神経の活動が筋活動を素早く調節している可能性を示唆している。

ドーパミン神経は、報酬や嫌悪、新奇性、驚きなど、様々な状況において発火頻度を増減することが知られている。また、動作の開始や停止、運動学習などとの関係も報告されている。本研究で得られた結果から、これらのイベントに伴うドーパミン神経の活動変化が素早く M1 に伝達され、M1 の活動性を調整・調節することによって、運動遂行・運動学習に寄与している可能性が考えられる。今後、本研究が明らかにした VTA-M1 神経伝達機構について、覚醒動物を対象とした実験などによって明らかにしていくことが重要である。

審査の結果の要旨

(批評)

これまで多くの先行研究がドーパミンの運動機能への関わりを報告してきたが、そのほとんどは大脳基底核線条体へのドーパミン神経投射をターゲットにしている。一方、ドーパミン神経は大脳皮質で運動の実行を担うM1にも神経投射しているが、その役割についてはほとんど研究が進んでいなかった。本研究は、この一次運動野へのドーパミン神経投射が、供放出されるグルタミン酸によって一次運動野の活動性を制御し得ることを明らかにした画期的なものである。

平成 27 年 1 月 15 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、論文の修正を求める意見が出された。提出された修正について審査した結果、平成 27 年 1 月 30 日、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士（神経科学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。