

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（医学）	氏名	久保 怜香
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1・2 項該当		
論文題目 The anatomical pathway from the mesodiencephalic junction to the inferior olive relays perioral sensory signals to the cerebellum in the mouse (マウスヒゲ領域の触覚情報は視床—中脳領域から下オリーブ核への経路で中継され小脳に伝達される)			
論文審査担当者			
主査	教授 相澤 秀紀	印	
審査委員	教授 丸山 博文		
審査委員	准教授 飯田 幸治		
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>げっ歯類の口辺ヒゲ領域の体性感覚情報は眼窩下神経（Infraorbital nerve (ION)) を介して三叉神経核に伝わる。小脳プルキンエ細胞は、この体性感覚情報を対側の延髄の下オリーブ核（inferior olive, IO）から登上線維を介して受け取り、その結果登上線維の活性化を反映する Complex spike (CS) を発生することが知られている。しかし、ION から IO への信号伝達経路はこれまで明らかになっていなかった。</p> <p>触覚情報が脳皮質に伝えられることは良く知られているが、過去の研究から脳皮質一次運動野 (MI) や体性感覚野 (SI) に対する電気刺激によりプルキンエ細胞で CS が発生することが報告されており、脳皮質一次運動野と体性感覚野が ION から IO への感覚情報伝達に関与している可能性がある。また主に形態学的な解析から、IO は視床—中脳領域 (area parafascicularis prerubralis (PfPr)) から強い投射を受けていることが知られており、さらに PfPr は三叉神経核から投射を受けるとする報告もあるため、PfPr も ION から IO への感覚経路の中継領域候補として挙げられる。本研究ではマウスの ION から IO への感覚情報経路を明らかにするため、電気生理学的、形態学的手法を用いて解析を行った。右側小脳 Crus II 領域を開頭し、単一プルキンエ細胞からガラス微小電極を用いて single unit recording を行った。右側の ION (記録している小脳と同側) を露出してタングステン刺激用電極を設置し、電気刺激により誘発される CS の計測を行った。過去の報告と同じく、同側 ION 刺激によりプルキンエ細胞にて CS が観察され、その潜時は 20-70ms の範囲であることを確認した。</p> <p>脳皮質が ION から IO への感覚経路の中継領域である可能性を調べるために、これらの領域の神経活動を抑制する実験を行った。黄色光 (575nm) 照射により神経細胞を電氣的に抑制する ArchT を Cre 依存的に発現するマウスと、脳皮質神経細胞特異的に Cre を発現する Emx1-Cre マウスを掛け合せ、脳皮質の神経細胞特異的に ArchT を発現させたマウスを作製した。このマウスの SI に黄色光を照射</p>			

し、神経活動を抑制した。もし SI が ION から IO への信号伝達に関与しているなら、黄色光照射により CS が抑制されることが予想されるが、ION 刺激に対する CS 応答はほとんど変化しなかった。一方 MI への照射では、SI と同様に CS 応答の抑制は見られなかったが、逆に CS 出現頻度が促進することが分かった。MI に対する抑制効果をさらに確認するため、神経活動を抑制する GABA_A 受容体のアゴニストである muscimol を大脳皮質に局所注入することにより神経活動を阻害する実験を行った。ArchT 活性化による神経細胞抑制の実験と同様に、CS 応答は阻害されず逆に促進されることが分かった。この結果は、MI、SI とともに ION から IO への感覚経路に含まれていないが、MI は感覚情報経路に対し抑制性の作用を持つことを示唆する。

次に PfPr の関与について解析した。PfPr から IO への投射は同側性であり、IO から小脳への投射は対側性であるため、左側 PfPr (記録している小脳と対側) へ muscimol を投与して CS への影響を解析した。実験の結果、muscimol 投与により ION 刺激に対する CS 応答がほぼ消失した。このことは、PfPr が ION から IO への信号伝達経路に含まれていることを強く示唆する。PfPr から IO まで機能的に有効な回路が存在することを確認する為、PfPr にガラス電極を挿入して人工的に電気刺激したところ、プルキンエ細胞で CS 応答が生じることが分かった。また、順行性・逆行性トレーサーを PfPr に注入して形態学的な投射パターンを解析した結果、三叉神経脊髄路核吻側亜核→PfPr、PfPr→下オリーブ核の直接投射があることが確認された。最後に、ヒゲ領域へのより自然な感覚刺激で引き起こされる信号伝達に対する PfPr の関与を確認するため、air-puff によるヒゲ刺激で誘発される CS に対する PfPr への muscimol 注入の影響を解析したところ、CS 誘発が阻害されることが分かった。これらの結果は、ION からの感覚信号は三叉神経脊髄路核吻側亜核を介して視床-中脳領域まで伝達され、PfPr を中継核として IO に伝えられていることを示している。

PfPr は大脳や小脳から投射を受けているため、本研究は、顔面の体性感覚情報はこれまで想定されていた以上に複雑な信号修飾を受けた上で小脳に伝達される可能性を示唆する。

以上の結果から、本研究は体性感覚情報の信号処理プロセスの解明に寄与すること大である。

よって審査委員会委員全員は、本論文が久保怜香に博士 (医学) の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。

別記様式第7号（第16条第3項関係）

最終試験の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（医学）	氏名	久保 怜香
学位授与の条件	学位規則第4条第(1)・(2)項該当		
論文題目 The anatomical pathway from the mesodiencephalic junction to the inferior olive relays perioral sensory signals to the cerebellum in the mouse (マウスヒゲ領域の触覚情報は視床—中脳領域から下オリーブ核への経路で中継され小脳に伝達される)			
最終試験担当者			
主査	教授	相澤 秀紀	印
審査委員	教授	丸山 博文	
審査委員	准教授	飯田 幸治	
〔最終試験の結果の要旨〕			
判 定 合 格			
<p>上記3名の審査委員会委員全体が出席のうえ、平成30年8月2日の第75回広島大学研究科発表会（医学）及び平成30年8月1日本委員会において最終試験を行い、主として次の質問を行った。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1 一次運動野からの抑制制御の機能的意義 2 三叉神経主知覚核の関与 3 Optogenetics と muscimol 投与方法論上の違い 4 PfPr—小脳経路の機能的な意義 5 神経投射が複雑である意義 6 線条体システムとの関係 <p>これらに対して極めて適切な解答をなし、本委員会が本人の学位申請論文の内容及び関係事項に関する本人の学識について試験した結果、全員一致していずれも学位を授与するに必要な学識を有するものと認めた。</p>			