

論文審査の要旨及び担当者

報告番号	① 乙 第	号	氏 名	加 藤 智 信
論文審査担当者	主 査	精神神経科学	三 村 將	
	生理学	柚 崎 通 介	解剖学	仲 嶋 一 範
	内科学	中 原 仁		
学力確認担当者：			審査委員長：柚崎 通介	
			試問日：2022年11月 2日	
(論 文 審 査 の 要 旨)				
論文題名：Oscillatory Population-Level Activity of Dorsal Raphe Serotonergic Neurons Is Inscribed in Sleep Structure (背側縫線核セロトニン神経の集合振動活動は睡眠状態を規定する)				
<p>背側縫線核 (DR) セロトニン (5-HT) 神経活動と、睡眠覚醒状態の関連性は古くから研究されているが、DR 5HT神経の集合としての振る舞いは不明だった。本研究ではマウス同神経の集合活動がノンレム (NREM) 睡眠中に振動しながら減少し、REM睡眠に移行することを見出した。さらに、その集合活動振動と逆方向に脳波パワーが振動することを発見した。以上から、マウスのNREM睡眠は単一の状態ではなく、5-HT神経活動と関連した脳波パワーの振動を伴う状態であることを示した。</p> <p>審査では集合活動がどのような細胞群の活動を反映しているか問われた。Sakai (2011) はsingle-unit計測により、活動様式で7種類に分類している。また、Okatyら (2020) によると、single cell RNA-seqで9種類が示されている。本研究では、光ファイバーの直径、開口数、検出できる深さから、DRに分布するすべてのクラスターの総和を見ていると回答された。次にチャンネルロドプシン (ChR2) を用いた刺激が生理的かどうか問われた。本研究ではC128S変異 (Berndtら (2009)) を持つChR2を用いているので、膜電位を上げるだけの介入になり、細胞固有の活動様式で発火を誘発できる。この点に関しては生理的であるが、細胞集団が刺激開始時に一気に同期する点については非生理的である。後半については解決が難しいと回答された。脳波パワーの振動と5-HT神経活動の因果関係について問われた。本研究の結果からは活動亢進と覚醒誘導の因果関係は示せたが、活動低下と睡眠変化の因果関係は示せなかったと回答された。続いて遺伝子改変マウスの特徴に関して問われた。まずTph2-YCマウスにおける蛍光物質 (YC) 発現の細胞種選択性・特異性について指摘された。概ね80%程度の5-HT神経細胞にYCが発現すること、他の細胞への発現がない高い特異性があると回答された。次に、内在性のTph2 (tryptophan hydroxylase 2) 遺伝子発現への影響について問われた。Tph2-tTA BACトランスジェニックを用いているので、内在性のTph2遺伝子発現にはほとんど影響がないと考えられると回答された。また、脳波パワーの振動と5-HT集合活動振動の共通の発生源について問われた。脳全体を支配するゆっくりとした振動を作り出す部位の存在が予想されると回答された。最後に、今回の神経活動抑制実験結果と、過去の機能欠失実験との整合性について問われた。縫線核の損傷実験やセロトニン合成阻害実験などの長期間の機能欠失実験では、睡眠時間の減少がみられるが、介入直後の睡眠覚醒推移を調べていない。今回の実験は短期間のセロトニン神経活動抑制が脳波パワーの振動を起こすか調べており、睡眠時間の長短を計測していない。このため直接の比較は難しく、さらなる検討が必要であると回答された。</p> <p>以上、本研究には未解決な課題が残るものの、5-HT神経と睡眠という古くからのテーマに先進的な技術を導入して取り組み、NREM睡眠が5-HT神経活動と関連した脳波パワーの振動を伴う状態であることを示した点において、有意義な研究であると評価された。</p>				