

# 論文内容の要旨

申請者氏名 佐野 裕美

The basal ganglia mediate a wide variety of psychomotor functions, including motor control, motor planning. The nigrostriatal dopamine (DA)-producing neurons play a critical role in the basal ganglia functions. The neural mechanism by which DA controls the basal ganglia circuitry through various populations of striatal neurons is not yet fully understood.

Immunotoxin-mediated cell targeting (IMCT) is a technique for conditional cell ablation in transgenic animals. In the strategy of IMCT, transgenic mice are generated that express human interleukin-2 receptor  $\alpha$ -subunit (IL-2R $\alpha$ ) under the control of a cell type-specific promoter, and these mice are then treated with a recombinant immunotoxin (IT). In the present study, IMCT was applied to ablate the neuronal types expressing dopamine D2 receptor (D2R) in the dorsal striatum. To express IL-2R $\alpha$  under the control of the D2R gene, the IL-2R $\alpha$  gene cassette was introduced into the mouse D2R locus with gene targeting. Injection of IT into the striatum induced a selective ablation of the striatopallidal medium spiny neurons and the cholinergic interneurons in the mutants. The ablation of the striatal D2R-expressing neurons caused abnormalities in motor behavior, which were characterized by a hyperactivity of spontaneous movement and an attenuation of DA-induced hyperactivity. The ablation of these neurons caused upregulation of glutamic acid decarboxylase (GAD67) mRNA in the globus pallidum (GP) and downregulation of cytochrome oxidase activity in the subthalamic nucleus (STN), whereas it did not affect the expression of substance P mRNA in the striatonigral medium spiny neurons. The ablation reduced DA-induced expression of the immediate early genes (IEGs) in the striatonigral medium spiny neurons but not in the GP and STN. In addition, the mice treated with a selective cholinergic neurotoxin showed no apparent change in spontaneous motor behavior and they exhibited a modest increase in DA-induced behavior.

These results indicate that the striatopallidal medium spiny neurons play an essential role in dual control of motor behavior that includes the suppression of spontaneous behavior and the full expression of DA-induced behavior.

# 論文審査結果の要旨

申請者氏名 佐野 裕美

大脳基底核は随意運動や運動学習の制御に重要である。黒質緻密部に細胞体を持つドーパミンニューロンは、大脳基底核の中心である線条体へと投射する。申請者は、ドーパミンによる運動調節機構を明らかにするため、イムノトキシン細胞標的法を用いて、線条体特異的にドーパミン D2 受容体 (D2R) を発現するニューロンを破壊し、その運動協調機能への影響を解析することにより、線条体 D2 受容体を発現するニューロンの生理的役割を解析した。

イムノトキシン細胞標的法を利用するため、申請者はまず遺伝子ターゲティング法を用いて、D2 受容体遺伝子座にヒトインターロイキン-2 受容体 $\alpha$ サブユニット (IL-2R $\alpha$ ) をノックインした変異マウスを作製した。作製した D2R 変異マウスの線条体へ、IL-2R $\alpha$ を特異的に認識するイムノトキシンを注入すると、線条体-淡蒼球投射ニューロンとコリン作動性介在ニューロンが破壊された。両側の線条体の D2R 発現ニューロンを破壊したマウスでは、自発運動量の増加が観察され、メタンフェタミン投与時には、運動量は上昇するものの、野生型ほどの上昇は見られなかった。しかし、コリン作動性ニューロンの変性剤である AF64A を利用して、コリン作動性介在ニューロンを選択的に破壊したマウスでは、自発運動の増加は認められず、メタンフェタミン投与時には、野生型マウスと同程度の運動量の増加を示した。この結果より、D2R 変異マウスで見られた運動異常は、線条体-淡蒼球投射ニューロンの除去に起因することが明らかとなった。また自発運動時において、イムノトキシン処理した D2R 変異マウスは、野生型マウスと比較して、線条体-黒質投射ニューロンのサブスタンス P の発現量は同程度であったが、淡蒼球のグルタミン酸脱炭酸酵素の発現量は上昇し、視床下核のシトクロームオキシダーゼの活性は減少していた。ドーパミン刺激で誘導される *c-fos* の発現は、D2R 変異マウスの淡蒼球や視床下核では正常であったが、線条体-黒質投射ニューロンでは、野生型と比較して顕著な低下を示した。

これらの結果より申請者は、線条体-淡蒼球ニューロンは淡蒼球の抑制を介して自発運動を抑制し、ドーパミン刺激時には淡蒼球を脱抑制するとともに線条体-黒質投射ニューロンに影響することによって十分な運動促進作用を示す、というモデルを提案した。

以上のように本論文は、特定のニューロンのみを除去するというイムノトキシン細胞標的法を導入することにより大脳基底核の運動調節機構を明らかにしたものであり、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士 (バイオサイエンス) の学位論文として価値あるものと認めた。