

令和 6年 2月

# 奈良井絵美 学位論文審査要旨

主 査 松 尾 聡  
副主査 畠 義 郎  
同 檜 山 武 史

## 主論文

Hypothalamic orexinergic neurons projecting to the mesencephalic locomotor region are activated by voluntary wheel running exercise in rats

(中脳歩行誘発野に投射するオレキシン神経は自発走行運動によって活性化する)

(著者：奈良井絵美、渡邊達生、木場智史)

令和6年 Yonago Acta Medica 掲載予定

## 参考論文

A brainstem monosynaptic excitatory pathway that drives locomotor activities and sympathetic cardiovascular responses

(歩行運動と交感神経性循環反応を生成する興奮性脳幹神経回路)

(著者：木場智史、熊田奈桜、奈良井絵美、片岡直也、中村和弘、渡邊達生)

令和4年 Nature Communications 13巻 5079頁

# 学位論文要旨

Hypothalamic orexinergic neurons projecting to the mesencephalic locomotor region are activated by voluntary wheel running exercise in rats

(中脳歩行誘発野に投射するオレキシン神経は自発走行運動によって活性化する)

運動時には活動筋で増加した酸素需要を満たすために循環調節が必要である。その調節機構の一つにセントラルコマンドと呼ばれるフィードフォワード制御がある。セントラルコマンドは運動発現の意思によって脳の前方において生じ、運動神経系と自律神経系を制御する皮質下の回路を活性化する。私たちはこれまでに、延髄吻側腹外側野 (RVLM) に投射する中脳歩行誘発野 (MLR) の神経が走行運動を実現するためのセントラルコマンド伝達に必要な不可欠であることを明らかにした (Koba et al, *Nat Commun*, 2022)。しかし運動中にMLR神経の活動を制御する上位の回路は不明である。そこで、MLR神経の上位回路として視床下部背側領域 (DH) に局在し特に脳弓周囲野 (PeFA) に多く分布するオレキシン神経に着目した。オレキシン神経は歩行誘発能や交感神経刺激能を持ち、その一部はMLRに投射するという報告があることから、MLRに投射するオレキシン神経は運動時にセントラルコマンドを伝達し、運動神経系と交感神経系の両方を制御する可能性があると考えた。本研究は、MLRに投射するオレキシン神経が自発的ホイール走行運動によって興奮するかを調べることを目的とした。

## 方法

まず、DH神経がMLR神経とシナプス接続するかを確認するため、順行性に経シナプス感染してCreを発現させるアデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターセロタイプ1をSprague-Dawley (SD) ラット (オス、n = 4) のPeFAに注入した。約4週間後に灌流固定をしてMLRを含む中脳冠状切片を作製し、Creに対する免疫組織化学染色 (IHC) を行った。

次に、MLRに投射するDH神経において、自発的ホイール走行運動が神経活性マーカーであるFosの発現を増加させるかを検討した。実験には予めホイール運動に慣れさせたメスSDラットを用いた。Creを発現させる逆行性AAVベクターをMLRに注入することで、MLR投射神経核におけるCre発現を誘導した。注入から約4週間後、無作為にコントロール (Ct1) 群と運動 (Ex) に分け (各群 n = 7)、Ex群のケージには90分間ホイールを設置して自由に走行させた。90分間の実験期間直後に灌流固定し、DHを含む冠状切片を作製してオレキシン、

Fos、およびCreに対するIHCを行った。

## 結 果

AAV1をPeFAに注入したラットにおいて、MLRで多くのCre発現細胞が観察された。すなわち、PeFA神経はMLR神経とシナプス接続することが示された。

逆行性AAVをMLRに注入したラットのEx群は実験日にホイールを設置した90分間、断続的に走行した(900-3, 632回転)。Creで標識されたDH内のオレキシン神経、つまりMLRに投射するオレキシンDH神経は、ブレグマから尾側方向に2.5~3.5 mmの範囲内で0.25 mmごとに作成した冠状切片では、ブレグマから3.0 mm尾側 (B-3.0) の切片において最も多かった。さらにDHを内側野 (DMH)、PeFA、外側野 (DLH) に分けると、MLR投射性オレキシン神経はPeFAに最も多く分布していた。

Fosを発現したMLR投射性オレキシン神経数はどのブレグマレベルでもEx群でCt1群より多く、Ex群でのブレグマレベル間での比較ではB-3.0において最多であった。またMLR投射性オレキシン神経のうちFosを発現した割合はB-2.5では43%であった一方、B-2.75から-3.5ではいずれも60%以上であった。さらにB-3.0において、DMHとPeFAではMLR投射性オレキシン神経のうちFosを発現した割合は75%以上であった一方で、DLHでは49%であった。

MLRに投射するDH内の非オレキシン神経では、オレキシン神経に比べてFos発現神経の割合が低かった。

## 考 察

自発的走行運動によってMLRに投射するオレキシン神経は興奮し、その運動感受性はDHの後方かつ内側に分布するオレキシン神経で高い。MLRに投射するオレキシン神経のうち、特にDHの後方かつ内側に分布する神経は、セントラルコマンドを伝達してMLR神経を活性化することが示唆された。

## 結 論

MLRに投射するオレキシン神経は自発的走行運動によって興奮する。運動時の運動神経系と自律神経系の制御におけるこの回路の役割の解明は今後の課題である。