

## 論文の内容の要旨

### 扁桃体による歯状回シナプス可塑性の調節

氏名 中尾 和人

#### 【序論】

記憶・学習などの脳高次機能は、神経回路網のダイナミックな可塑的变化を基盤にしている。長期増強 (Long-term potentiation: LTP) や長期抑圧 (Long-term depression: LTD) はシナプス可塑性のモデルとして、精力的に研究が行われている。特に、記憶形成に重要な役割を担っているとされる海馬では、その研究が著しい。

一方、扁桃体は、海馬と同じ古皮質由来の脳部位で、恐怖や情動に深く関与していると考えられてきた。しかしながら、最近の行動薬理的解析から、扁桃体は単に恐怖記憶を形成するだけでなく、他の脳部位の記憶を調節しているのではないかという仮説が提唱されてきている。しかし、この仮説を証明するような電気生理学的解析は今まで十分に行われてこなかった。そこで、私は、海馬・扁桃体両者の神経連絡が残っている麻酔下ラットを用い、扁桃体刺激による歯状回シナプス可塑性への影響について詳細に解析を行った。

#### 【方法と結果】

雄の Wistar 系ラット (290g~390g) をウレタン-クロラロース麻酔し、内側貫通線維 (MPP) を刺激して、歯状回 (Dentate gyrus: DG) より誘発する集合シナプス電位 (fEPSP) を記録した。また同時に扁桃体基底外側核 (Basolateral amygdala: BLA) を刺激し、MPP-歯状回シナプス可塑性に対する影響を検討した。

##### 1. BLA刺激による歯状回顆粒細胞の活性上昇

BLA 刺激 2 時間後、神経活動の指標であると考えられている c-Fos 活性染色を行った。BLA 刺激群は、刺激した同側の歯状回で高い c-Fos 発現が認められた。

次に、BLA および MPP を刺激し、層に対して垂直に記録電極を移動して細胞外電位を記録し、電流源密度解析法を使い、シナプス電位の発生源を求めた。MPP 刺激による電流吸い込みは inner molecular layer に、BLA 刺激による電流吸い込みは outer molecular layer に観察された (Fig.1)。また BLA 刺激による誘発電位の潜時が MPP と比べ長かったことから、BLA は MPP と異なり、複数のシナプスを介して outer molecular layer にシナプスを形成

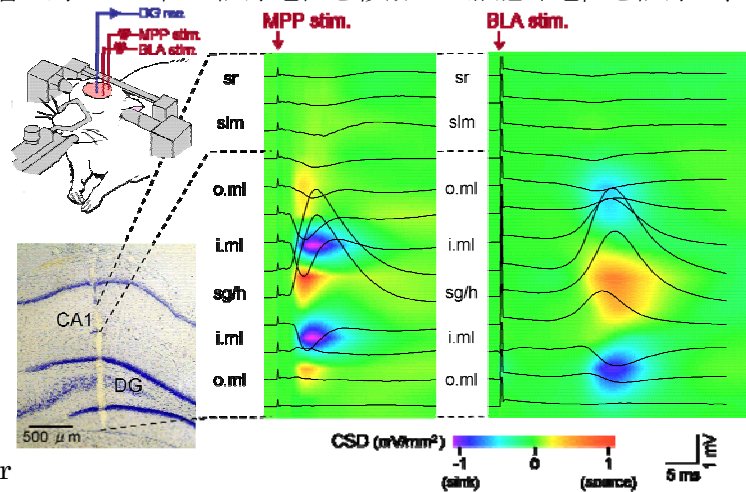


Fig.1 BLA 刺激による歯状回誘発電位の電流源密度解析

し、歯状回顆粒細胞の活性を上昇させていると思われる。

## 2. BLA刺激によるBCM曲線への影響

*In vivo* では難しいと言われていた LTD をコンスタントに誘導するため、私は low frequency burst stimulation(LFBS)を見出した (Fig.2A)。この刺激条件の pulse 数のみを変えることにより、刺激の強さに応じ、

LTD から LTP まで連続的に誘導することに成功した (Fig.2D)。これは Bienenstock, Cooper, Monro らによって提唱された BCM 曲線を *in vivo* で具現化したものであり、BCM 曲線の閾値は以前または同時に生じた神経活動によって変化するとされている。そこで、BLA に強い刺激として 64 pulses の LFBS を MPP 刺激と

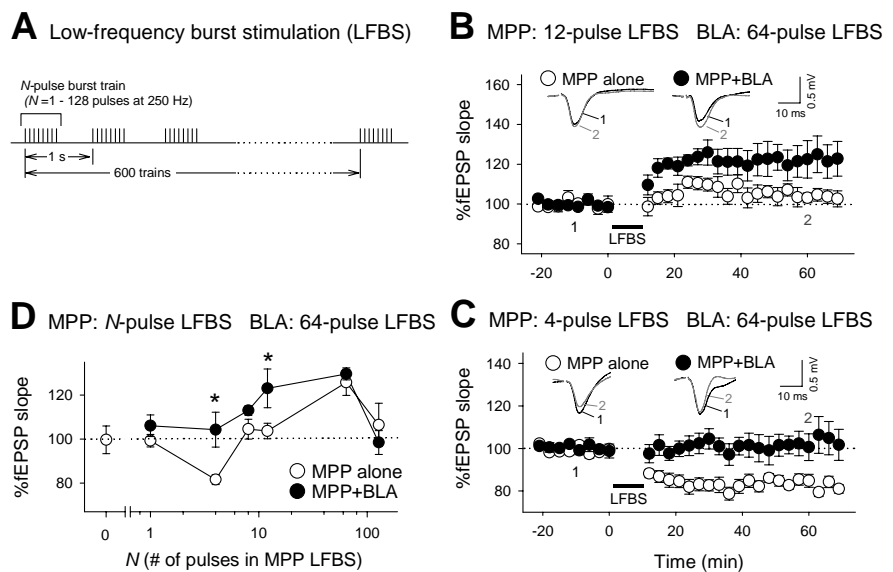


Fig.2 BLA に強い刺激を与えた時の歯状回シナプス可塑性への影響

同時に与え、MPP-DG シナプスにおける BCM 曲線への影響について検討した。MPP のみに 12 pulses の LFBS を与えると、LTP は誘導しなかったが、同時に BLA に 64 pulses の LFBS を伴うと、LTP が誘導された (Fig.2B)。逆に、MPP のみに 4pulses の LFBS を適用すると LTD が誘導されるが、同時に BLA に 64 pulses の LFBS が伴うと LTD が阻害された (Fig.2C)。同様に刺激条件を変えて検討してみたところ、BLA に強い刺激が伴うと BCM 曲線は上にシフトすることがわかった (Fig.2D)。

次に、MPP に適用する刺激条件を 8 pulses の LFBS に固定し、同時に BLA に与える LFBS の pulse 数を変えて検討したところ、同様に BCM 曲線を示せた。したがって、BLA の刺激の強さによって MPP-DG シナプスの可塑性が変化すると考えられる。

そこで次に、BLA に弱い刺激として 4 pulses の LFBS を MPP 刺激と同時に与え、MPP-DG シナプスにおける BCM 曲線への影響について検討した。MPP 刺激のみで LTP を誘導する条件に、同時に BLA に 4 pulses の LFBS を適用すると、LTP が阻害された (Fig.3A)。逆に、MPP 刺激のみで LTD が誘導される条件に、同時に BLA に 4 pulses の LFBS が伴うと LTD が増強された (Fig.3B)。同様に刺激条件をふって検討してみたところ、BLA に弱い刺激が伴うと BCM 曲線は下にシフトすることがわかった (Fig.3C)。

### 3. BLA活動履歴による歯状回シナプス可塑性への影響

priming 刺激として BLA に高頻度刺激あるいは低頻度刺激を与えると、BLA-DG シナプスに LTP および LTD が誘導された (Fig.4A)。その5分後に、BLA と MPP に同時刺激を行うと、BLA priming の影響で、MPP-DG シナプス可塑性が変動した (Fig.4B)。また、BLA-DG シナプスの波形の大きさと MPP-DG シナプスの可塑的変化率の間には高い相関性があった (Fig.4C)。以上より、BLA-DG シナプスの結合の強さが歯状回シナプス可塑性の調節を決定していると示唆された。

#### 【まとめと考察】

本研究において、私は以下の点を明らかにした。①BLA は、歯状回の outer molecular layer にシナプスを形成し、歯状回顆粒細胞の活性を上昇させている。②BLA は、その活動に基づき、両方向に歯状回シナプス可塑性をコントロールしている。③BLA による歯状回シナプス可塑性の調節は、BLA-DG の結合の強さ、すなわち BLA の活動履歴に依存している。

以上のような BLA による歯状回シナプス可塑性のメタ調節は、扁桃体による海馬依存性学習の修飾に相当すると思われる。本研究は、海馬と扁桃体、すなわち情動と記憶の関係を考える上で非常に重要な知見であると思われる。現在、本結果に基づき、BLA 刺激による海馬 local field potential への影響、覚醒下での電気生理学的解析を行っている。

#### 【参考文献】

- Nakao,K.et.al., Neurosci.Lett.,2001.307,159-162  
 Nakao,K.et.al., Eur.J. Neurosci., 2002.16, 970-914  
 Nakao,K.et.al., Synapse,2003.47,163-168  
 Nakao,K.et.al., Proc.Natl.Acad.Sci.USA,2004.101,14270-14275

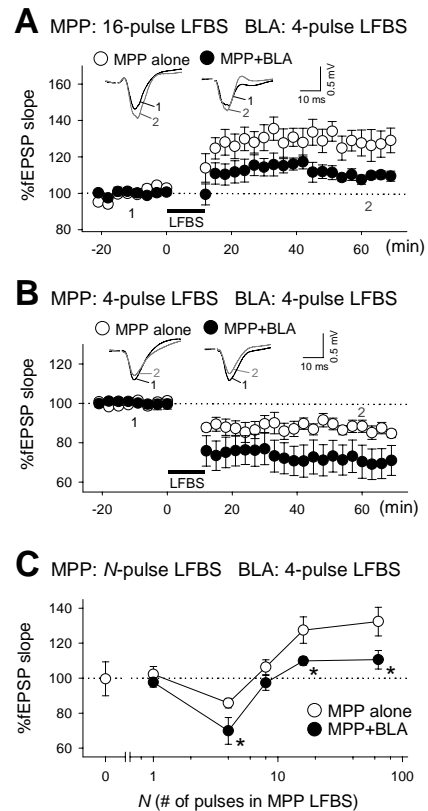


Fig.3 BLA に弱い刺激を与えた時の歯状回シナプス可塑性への影響

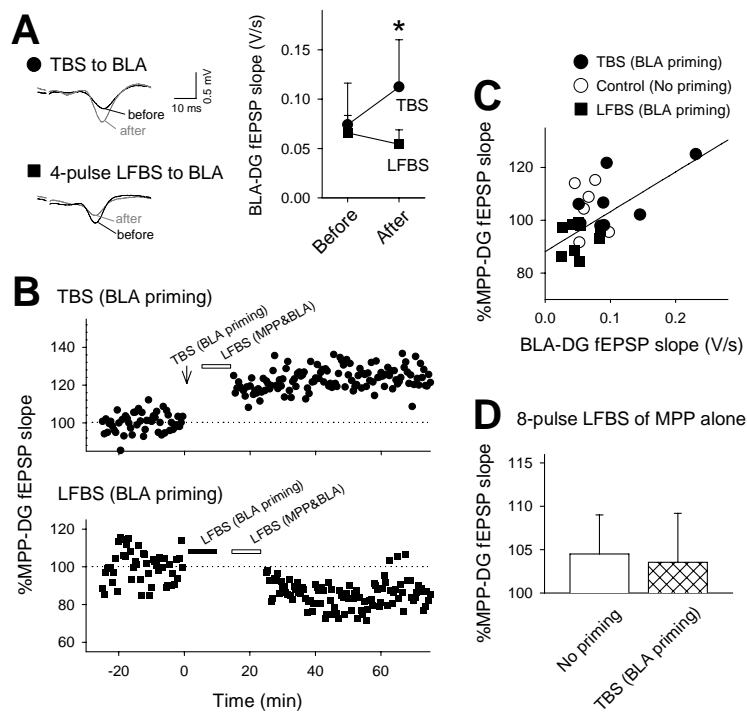


Fig.4 BLA 活動履歴による齒状回シナプス可塑性への影響