

論文審査の結果の要旨

論文提出者氏名 釣木澤 朋和

本研究の目的は、成獣で女性ホルモンが記憶学習能に与える影響の神経機構を研究することである。海馬神経細胞樹状突起には棘状の微小な(直径 $1\mu\text{m}$ 弱)突起が存在している。これらの突起をスパインと呼ぶ。スパインは形態学的特長から、mushroom(大きい頭部を持つ)、thin(小さい頭部を持ち、細長い)、filopodium(首が無く、ひよろ長い)、stubby(首が無く、短い)の4種類に大別される。CA3透明層では、スパインとは異なる、複数の頭部(thorn)を持ち、密集している thorny excrescence(complex spine)という特殊なスパインが存在している。神経前細胞からの軸索終末と後細胞のスパインがシナプス結合を形成しており、神経細胞はこのシナプス結合を介して情報を伝達している。論文提出者は、神経細胞スパインが、海馬内で合成される女性ホルモン(エストラジオール)によってどのような影響を受けるかを、単一神経細胞染色したスパインの蛍光イメージングによって解析した。

成獣の海馬における女性ホルモンの神経細胞スパインへの影響を研究する為、論文提出者は、12週齢の雄ウィスターラットから作製した急性スライスを用いた。薬理刺激後、速やかに試料を組織固定し、カレントインジェクション法を用いて蛍光染色した。蛍光色素として、Lucifer Yellowを用いた。その後、共焦点レーザー顕微鏡により $0.5\mu\text{m}$ 毎に30-40枚の断層画像を撮影した。デコンボリューション処理により光学的ボケを減らした画像を三次元再構成して、CA1では各形態のスパイン密度を、CA3透明層ではthorn密度を測定した。

本論文では、エストラジオールによる海馬CA1、CA3領域における神経細胞スパイン・thornへの急性的な作用があることを発見した。CA1放射状層では1nMエストラジオールを2時間投与すると全スパイン密度が約1.5倍に増加し、各形態ではthin、filopodiumの密度が選択的に増加した。増加した内訳は、thinが80%、filopodiumが20%であった。さらに、エストロゲン受容体(ER) α の選択的アゴニストであるPPTによって同様の効果が見られるが、ER β の選択的アゴニストであるDPNでは見られないことから、エストラジオールはER α に作用することを示した。また、放射状層と同様の効果が上行層、網状分子層で観測された。これと対照的に、CA3では、1nMエストラジオールを2時間投与するとthorn密度が30%程減少した。さらに、ER α の選択的アゴニストであるPPTによって同様の効果が見られるが、ER β の選択的アゴニストであるDPNでは見られないことから、エストラジオールはER α に作用することを示した。また、

透明層以外の部位では、エストラジオールの効果が観測されなかったことから、エストラジオールの効果は神経細胞の部位に依存して異なることを明らかにした。エストラジオールによる 2 時間以内の効果を発見したのは本論文が初めてである。また、成獣でのエストラジオールによるスパイン密度変化をスライスで観測したのも本論文が初めてである。

次に、エストラジオールの効果にグルタミン酸受容体が必要であるかどうかを調べた。海馬興奮神経細胞では、情報伝達物質がグルタミン酸であることが知られており、グルタミン酸受容体はシナプス結合の可塑性に重要な働きをもつ事が知られている。グルタミン酸受容体には NMDA 型と AMPA 型、カイニン酸型受容体がある。CA1 では、NMDA 型受容体を介した自発的な細胞内へのカルシウムイオンの流入が必要であることを阻害実験により示した。これと異なり、CA3 では、AMPA 型受容体を介した自発的な膜電位変動が必要であることを阻害実験により示した。さらに、低閾値型膜電位依存性カルシウムチャネルを介した細胞内カルシウムイオンの自発的な変動も、エストラジオールの効果には必要であることを示した。

さらに、エストラジオールの効果のメカニズムを解明する為、MAP キナーゼの阻害剤を用いて測定した。CA1、CA3 で共に、MAP キナーゼ投与によりエストラジオールの効果が完全に阻害されることから、エストラジオールの効果には MAP キナーゼが必要であることを示した。

以上をまとめると、論文提出者は、本研究において、急性スライスでのカレントインジェクション法を用いた単一神経細胞スパインのイメージングにより、成獣の海馬でのスパイン形態の変化を測定することを可能とし、女性ホルモンが雄ラット海馬神経細胞スパインに急性的な変化を与えることを明らかにした。さらに、CA1、CA3 領域の神経細胞でそれぞれ全く違った効果を示し、作用メカニズムも異なることも発見した。これらの結果は脳神経科学において、非常に有意義な貢献をしたものと認められる。

よって、審査員一同、論文提出者釣木澤朋和は東京大学博士(学術)の学位を受けるに十分な資格があるものと認めた。なお、本論文の内容は、2005 年に Biochemical and Biophysical Research Communications 誌に公表済みである。これは共著論文であるが、論文提出者は研究の主要部分に寄与したものであることを確認した。