

## 論文の内容の要旨

論文題目 Functional properties of the NMDA receptor in the lateral amygdala: a comparison with those in the hippocampal CA1 region

扁桃体外側核の NMDA 受容体特性：海馬 CA1 領域との比較

指導教員 真鍋 俊也 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成 15 年 4 月進学

医学博士課程

脳神経医学専攻

三輪 秀樹

扁桃体は、恐怖をはじめとする情動の発現と記憶に関与することが今までの研究によって明らかになっている。マウスやラットなどの恐怖記憶学習能力を評価するための行動学的実験法としてよく用いられるものに、音恐怖条件付けがある。音恐怖条件付けでは、通常は恐怖反応を引き起こさない程度の音などの条件刺激 (conditioned stimulus ; CS) を呈示後に電気ショックなどの無条件刺激 (unconditioned stimulus ; US) を与えるという操作を繰り返すと、条件刺激を呈示しただけで、呼吸以外はまったく動かなくなるすくみ反応、脱糞、血圧上昇、および副腎皮質ホルモンの上昇などの情動反応を示すようになる。扁桃体は大きく分けて、扁桃体外側核 (LA), 基底外側核 (BLA), 基底内側核 (BM), 中心核 (CeA) という 4 つの神経核から構成されるが、音恐怖条件付けでは、扁桃

体外側核 (lateral nucleus of the amygdala ; LA) において CS と US が連合し、さらにその結果として、CS の情報伝達効率が上昇し、LA から CeA への情報伝達も促進されることにより、CeA からの出力が条件恐怖反応をより強く発現させると考えられている。実際、音恐怖条件付けによって、音という感覚性の情報を扁桃体に伝達するとされる視床-LA 経路において興奮性シナプス伝達の長期増強 (Long-term potentiation ; LTP) が *in vivo* の実験で誘導されることが観察されており、この LTP は音恐怖条件付けなどの恐怖記憶の細胞レベルでの基礎過程だと考えられている。

グルタミン酸受容体のひとつである NMDA 受容体は、NR1 (あるいは GluR $\zeta$ 1) サブユニットと NR2 サブユニット (GluR $\epsilon$ ) サブユニットが組み合わされることによりチャネルとしての機能を発揮する。NR2 サブユニット (NR2A-NR2D ; GluR $\epsilon$ 1-GluR $\epsilon$ 4) は受容体の機能修飾を行うサブユニットであり、発生時期や脳内における分布が異なることが知られている。また、NR2A サブユニットを含む NMDA 受容体はシナプス部位に局在し、NR2B サブユニットを含む NMDA 受容体はシナプス外部位に局在するという報告もあるが、その詳細については不明な点が多い。このように、NR2 サブユニットの多様性が NMDA 受容体特性を決定するため、ある脳部位の特定の神経細胞において、どの NR2 サブユニットが発現しているかを同定することは、その神経細胞での NMDA 受容体の役割、さらにはその脳部位の高次脳機能を解明するために重要である。しかしながら、発達に伴う NMDA 受容体特性の変化については調べられているが、脳部位間の NMDA 受容体特性の差異については不明な点が多い。

海馬での LTP 誘導および海馬依存性の場所記憶形成における NMDA 受容体の

重要性と同様に、音恐怖条件付けにおいて、NMDA 受容体阻害剤である APV を扁桃体に注入すると学習障害を生じることから、扁桃体の NMDA 受容体の活性化が恐怖記憶の獲得に重要な役割を担っていることが示されている。また、NR2B サブユニットを含む NMDA 受容体の選択的阻害剤である ifenprodil を LA 内に注入すると音恐怖条件付けによる恐怖記憶の獲得が障害されることが報告されている。さらに NR2B サブユニットの主要なチロシンリン酸化残基である Tyr-1472 をフェニルアラニンに置換したノックインマウスでは、扁桃体依存性の音恐怖条件付けおよび扁桃体におけるシナプス可塑性に異常が見られるが、海馬依存的な学習や海馬でのシナプス可塑性には異常は見られないことが報告されている。このことから扁桃体と海馬では、NMDA 受容体特性や NR2B サブユニットのシナプス伝達およびシナプス可塑性における寄与が異なり、それぞれの部位において異なる生理的役割を果たしていることが予想される。

そこで本研究では、視床-LA 経路の NMDA 受容体特性や NR2B サブユニットのシナプス伝達およびシナプス可塑性への寄与を明らかにするために、Schaffer 側枝-海馬 CA1 領域との比較を行いながら、電気生理学的・形態学的解析を進めた。扁桃体スライス標本および海馬スライス標本を用い、ホールセルパッチクランプ法により興奮性シナプス後電流 (Excitatory postsynaptic current ; EPSC) を記録した。その結果、(1)NMDA-EPSC/AMPA-EPSC 比は LA の方が大きく、(2)NMDA-EPSC の電流-電圧曲線において、負の膜電位の範囲で LA の方がシナプス電流が相対的に小さいという傾向が見られた。この NMDA-EPSC の電流-電圧曲線の差異は NMDA 受容体の細胞外  $Mg^{2+}$  感受性によるものと考えられることから、さらに詳細な解析を行ったところ、(3)NMDA-EPSC の細胞外  $Mg^{2+}$  感

受性は LA の方が低いことが示された。一方、NR2B サブユニットを含む NMDA 受容体の選択的阻害剤である ifenprodil を LA 内に注入すると音恐怖条件付けによる恐怖記憶の獲得が障害されることが報告されている。そこで、シナプス伝達における NR2B サブユニットの寄与について検討したところ、(4)ifenprodil による NMDA-EPSC の阻害効果は LA の方が大きかった。また包埋後免疫電子顕微鏡法を用いた解析においても、(5)シナプス部位の NR2A/NR2B サブユニット比は LA の方が小さいことが示された。以上のことから、LA のシナプス部位の NMDA 受容体は NR2B サブユニットをより多く含んでいることが示唆された。

このシナプス部位に存在する NR2B サブユニットの生理的役割の解明への試みの一端として、まず LTP 誘導への影響を検討した。その結果、(6)LTP 誘導における NR2B サブユニットの寄与は LA の方が大きいということが分かった。以上のことから LA のシナプス部位の NMDA 受容体は、①CA1 領域と比較すると異なる受容体特性を持つこと、さらに②これまでの報告とは異なり NR2B サブユニットがシナプス部位にも豊富に存在し、シナプス伝達およびシナプス可塑性に関して重要な役割を果たすことが強く示唆された。これらの LA の NMDA 受容体特性は、扁桃体のシナプス伝達およびシナプス可塑性、さらには恐怖記憶の獲得および表現など扁桃体が関与する高次脳機能において重要な役割を担っていることと結論される。