〔別紙2〕

審査の結果の要旨

氏　名　張寧

海馬CA3野は海馬が担っている記憶・学習などの脳高次機能においてユニークかつ重要な役割を果たしている。嗅内野皮質から海馬CA3野への入力には2つの経路がある。古典的な海馬trisynaptic回路で示される歯状回顆粒細胞の軸索(苔状線維)を経由したCA3野錐体細胞の近位樹状突起への間接投射と貫通線維（PP: perforant path）から遠位樹状突起への直接投射である。歯状回からの入力を切断してもCA3野錐体細胞の一定の場所だけ発火する性質は阻害されない。つまり、皮質からの場所情報が間接投射なしに正常にコーディングされていることになり、嗅内皮質から海馬CA3野への直接投射経路の重要性が示唆された。しかし、この神経経路の生理的な性質や機能はまだ十分に解明されていない。

青斑核(LC: Locus Caeruleus)は脳幹に位置するノルアドレナリン神経の起始核で、脳の覚醒や不安などに深く関与していると考えられてきた。海馬へのノルアドレナリン神経投射はほとんどLC由来であるが、その投射の海馬機能への役割は明らかにされていない。そこで、本研究では麻酔下ラットを用い、まず、PP経由の嗅内野皮質から海馬CA3野への単シナプス伝達を*in vivo*で記録し、当経路の可塑性などの性質について調べた。そして、LC興奮よる海馬CA3野シナプス伝達や可塑性への影響及びそのメカニズムについて解析を行った。

まず、ウレタン麻酔したラットのPPを刺激して海馬CA3野に誘発される集合シナプス電位（fEPSP）の性質を解析した。電流源密度解析法を使い、シナプス電位の発生源が網状分子層であり、単シナプス応答であることを示した。次に、この網状分子層で記録される下向きのfEPSPを指標に、シナプス可塑性を解析した。高頻度のシータ・バースト刺激（TBS）を繰り返すと、PP-CA3シナプス伝達に長期増強（LTP）が誘導され、逆に、低頻度バースト刺激（LFBS）をPPに与えると、長期抑圧(LTD)が誘導された。in vivoでPP-CA3経路に両方向性のシナプス可塑性が存在することを本研究で初めて示した。また、paired-pulse刺激を行い、短期可塑性を解析した。刺激間隔が150ミリ秒以下で増強(PPF)、それ以上の間隔では抑制(PPD)が観察され、シナプス終末機能が可塑性に関与することを示した。次に、従来の研究で用いられていたCA3錐体細胞層で記録される上向きのfEPSPを指標に解析を行った。この部位は電流源密度解析により電流吹きだし部位であることを確認した。強いTBSを与えてもわずかなLTPが誘導されるだけであり、低頻度刺激の条件を変えてもLTDは全く誘導されなかった。短期可塑性についてもPPDしか観察されなかった。

これらの結果からシナプス部位とシナプスを離れた部位で記録したfEPSPの性質が異なることを明確に示した。従来は、技術的な容易さから細胞体部位で記録が行われていたが、シナプス伝達の性質を正確には反映していなかったと考えられる。以降の研究では、網状分子層に記録電極を置き、PP-CA3シナプス伝達を記録した。

次に、青斑核(LC)にグルタミン酸(Glu)を局所注入し、PP-CA3シナプス伝達に対する影響を検討した。Glu注入によりLCが活性化されることをc-Fosの発現上昇で確認した。注入直後にPP-CA3シナプス伝達が増大し、その後徐々に回復した。このLC活性化によるシナプス伝達増大のメカニズムを薬理学的に解析した。β−アドレナリン受容体拮抗薬であるプロプラノロール、チモロール、そして、〈−アドレナリン受容体拮抗薬であるフェントラミンの脳室内投与により、有意に減少した。アドレナリン作動性神経終末を破壊する6-ヒドロキシドパミンを網状分子層に局所注入すると、LC活性化によるPP-CA3

シナプス伝達の増大が有意に抑制された。これらの結果から LC 活性化による PP-CA3 伝達の増強にはシナプス近傍でのノルアドレナリンの放出が関与していることが示唆された。

次に、PP-CA3 シナプス伝達可塑性に対する LC 活性化の影響を検討した。初期相で LTP 増強と LTD の抑制が認められたが、こうした影響は短時間しか認められず、強度も小さかった。次に、シナプス可塑性が起こったシナプスに対する LC 活性化の影響を検討した。Glu 注入による一過性の伝達増強は、シナプス可塑性後も大きく影響されなかった。従って、LC 活性化によるシナプス伝達増強メカニズムはシナプス可塑性とは異なるユニークなメカニズムによるものであることが考えられた。

本研究は in vivo における PP-CA3 伝達について解析し、① in vivo において、PP-CA3 シナプスには両方向性の可塑性が存在すること。また、シナプス結合部位とシナプスを離れた部位で記録した fEPSP は異なる性質を有していること、② LC 活性化により PP-CA3 シナプス伝達が増強され、その原因として LC より投射しているアドレナリン作動性神経から遊離したノルアドレナリンがアドレナリン α、β 両受容体を介して作用したものと考えられること。③ PP-CA3 シナプスに誘発した弱い長期増強の初期相においてのみ LC 活動により LTP が促進されること。④ LC 活性化による PP-CA3 シナプス伝達の増強はシナプス可塑性とは異なるメカニズムによること、を明らかにした。嗅内野皮質から海馬 CA3 野への直接投射はそれ自身が両方向性のシナプス可塑性を示すうえに、青斑核の活動による修飾を受けることが明らかになった。以上は、海馬の機能や疾病治療薬を開発する上で重要な知見であり、博士(薬学)の学位に値する内容であると判断した。