

論文の内容の要旨

論文題目 後部扁桃体基底核-腹側海馬 CA1 経路と海馬 Schaffer 側枝-CA1 経路間シナプスの相互調節

氏名 松山 皓治

海馬は記憶学習を担う重要な脳部位であり、海馬内神経回路のシナプス伝達や可塑性については分子レベルでの解明が進んでいる。しかし、海馬機能を明らかにするために重要な海馬全体および他の脳部位を介する神経回路の調節とその調節メカニズムについての解明は非常に遅れている。近年海馬長軸方向における機能の違いが注目され、背側海馬は認知や空間学習により重要であり、腹側海馬は恐怖不安などに関与することが言われている。このように海馬長軸方向における機能違いは、背側海馬と腹側海馬が異なる脳部位と神経連絡があり、他の脳部位の神経回路から調節をうけることによるものだと考えられる。

扁桃体と海馬の間では、相互に嗅内野皮質を介した間接投射と介さない直接投射があると報告されている。扁桃体が間接投射を介し、海馬歯状回のシナプス可塑性を双方向に調節していることは、当研究室よりすでに報告しているが、直接投射についてはほとんど知見がない。私は修士課程において、密な投射があると言われている後部扁桃体基底核から腹側海馬 CA1 野への投射経路(以下 BA 経路と略す)の性質及び可塑性を研究し、この直接経路がグルタミン酸作動性神経経路であり、シナプス可塑性がストレスに影響されやすいことを明らかにした。しかし、海馬内の重要な情報伝達経路である Schaffer 側枝-CA1 経路(以下 Sch 経路と略す)との調節関係は知られていない。そこで、私は博士課程において、*in vivo* での電気生理学及び薬理的な実験手法を用いて、両神経経路の相互調節作用及びそのメカニズムの解明について研究した。

1. 両経路における通常伝達の相互調節

In vivo で両経路の誘発細胞外興奮性シナプス電場電位 (fEPSP) の同時記録方法を確立した後、それぞれの先行刺激による他方の通常伝達への調節について検討した。数十ミリ秒の間隔において、BA 経路先行刺激がある時の Sch 経路の fEPSP と BA 経路先行刺激がない時の通常伝達を比較した (Fig. 1)。短い刺激間隔の時は Sch 経路の通常伝達が抑制されるが、刺激間隔が長くなると、抑制調節がほとんどなくなった。一方、Sch 経路を先行刺激すると、黒丸に示すように BA 経

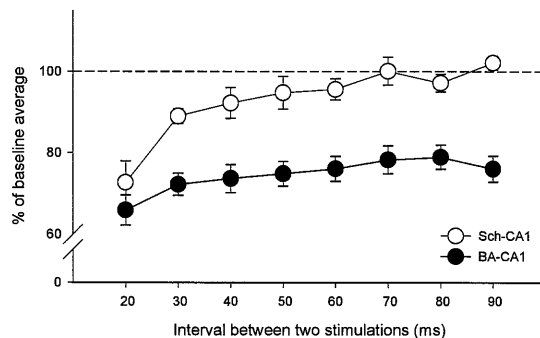


Fig.1 先行刺激による神経伝達への抑制調節
BA を先行刺激して、Sch-CA1 経路の fEPSP がベース応答に対する割合は白丸(○)に示す。Sch 先行刺激による BA-CA1 経路の抑制は黒丸(●)に示す(N=6)。

路の通常伝達が長時間にわたって抑制された。つまり、二つの経路はそれぞれ他方に対する調節効果が異なっている。また、Sch 経路先行刺激による BA 経路への伝達抑制は約 400ms 持続した。一方、BA 経路先行刺激の刺激強度を強くするために、バースト刺激を与えると、Sch 経路の通常伝達が長時間にわたって抑制され、BA 経路に与える刺激の強度に依存することがわかった。以上のことから、BA 経路と Sch 経路において、入力のタイミングと強さによって、他方への調節が異なり、両経路間におけるシナプス伝達のしやすさに違いがあると考えられる。

2. 両経路における相互調節のメカニズム解析

この長時間にわたる抑制のメカニズムについて検討した。中枢神経系における抑制性神経は主に GABA 作動性神経で、GABA 受容体には二つのサブタイプがあり、イオンチャンネル共役型の GABA_A 受容体を介した抑制作用は時間経過が速いので、ゆっくりとした抑制作用がある GABA_B 受容体に注目した。また、脳内 G タンパクカップリング受容体の中で一番多く存在するカンナビノイド受容体のサブタイプである CB₁ 受容体を介したプレシナプス側からの神経伝達物質放出減少による抑制も考えられたので、GABA_B 受容体アンタゴニストである CGP55845 と CB₁ 受容体アンタゴニストである AM251 を用いて検討した。

まず、BA 経路先行バースト刺激による Sch 経路の伝達抑制への関与を検討した。GABA_B 受容体アンタゴニストを適用前と適用後それぞれ BA 経路バースト刺激による Sch 経路の伝達抑制を記録した。その結果は Fig. 3 の A に示す。Sch 経路の伝達抑制が長い刺激間隔の時に、有意に小さくなった。また、B に示すように CB₁ 受容体のアンタゴニストを適用後は短い刺

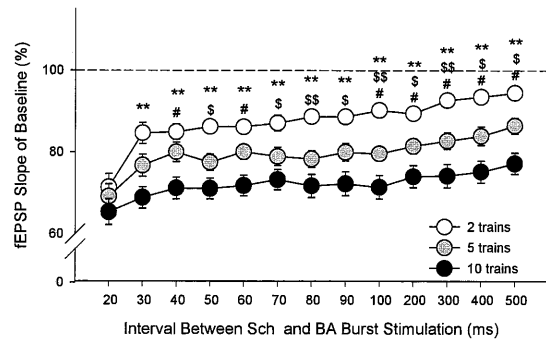


Fig.2 BA 先行刺激による Sch-CA1 経路の伝達抑制は BA の強度によって異なる
BA にそれぞれ 200Hz の間隔で 2 回(○)、5 回(●)、10 回(●)を先行刺激すると、Sch-CA1 経路の伝達抑制は刺激が強くなるにつれ、有意に抑制が大きくなる。(* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, 2trains vs. 10trains; \$ $p < 0.05$, \$\$ $p < 0.01$, 2trains vs. 5trains; # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$, 5trains vs. 10trains; Tukey test after two-way ANOVA. N=13)

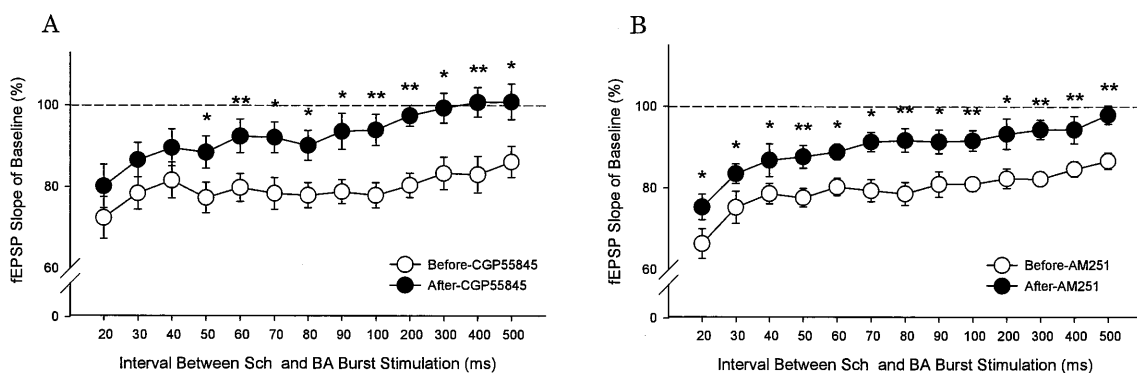


Fig.3 CGP55845 及び AM251 が BA 経路先行刺激による Sch 経路の伝達抑制への影響
A: GABA_B 受容体アンタゴニストである CGP55845 適用後、長い間隔における抑制が有意に小さくなった。
B: CB₁ 受容体アンタゴニストである AM251 適用後、短い間隔も長い間隔も有意に抑制が小さくなった。
(* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, Paired t test after two-way ANOVA. 5trains N=6 or 7)

刺激間隔においても抑制が有意に小さくなった。

次に、Sch 経路先行刺激による BA 経路の伝達抑制への関与についても検討した。GABA_B 受容体アンタゴニストを適用後、短い刺激間隔においては抑制が有意に小さくならなかったが、長い刺激間隔においては、有意に小さくなり、さらに長い刺激間隔ではむしろ上昇に転じた。一方、CB₁ 受容体のアンタゴニスト適用後は、適用前と有意な差が認められなかった (Fig. 4)。

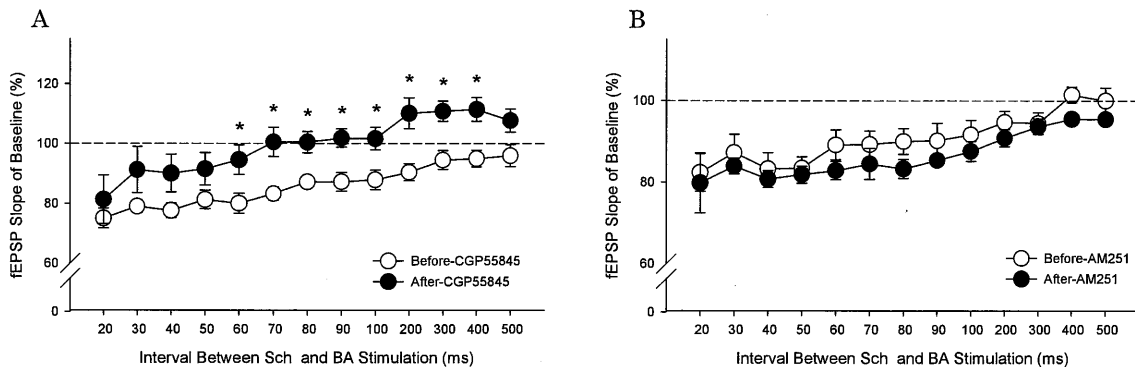


Fig.4 CGP55845 及び AM251 が Sch 経路先行刺激による BA 経路の伝達抑制への影響

A: CGP55845 適用後長い刺激間隔における抑制が有意に小さくなった。

B: AM251 適用後抑制に有意な差が認められなかった。

(* $p < 0.05$, Paired t test after two-way ANOVA. N=6 or 5)

GABA_B 受容体アンタゴニストを適用後、さらに長い刺激間隔でのシナプス伝達が増加に転じたメカニズムについて検討した。そこでプレシナプス側の神経伝達物質放出確率の変化を反映する PPF に注目した。BA 経路と Sch 経路において、短い刺激間隔では PPF が生じるが、GABA_B 受容体アンタゴニストを適用後、BA 経路と Sch 経路の短い刺激間隔において、PPF が有意に大きくなっていることがわかった。一方、CB₁ 受容体のアンタゴニストを適用後、両経路の PPF に変化が認められなかった。この結果から、プレシナプス側に存在する GABA_B 受容体が興奮性神経伝達物質の放出確率に影響していることが示唆された。

以上の結果をまとめると、BA 経路先行バースト刺激による Sch 経路の伝達抑制には、GABA_B 受容体と CB₁ 受容体を介した二つの抑制系が関与している。また、Sch 先行刺激による BA 経路の伝達抑制には、GABA_B 受容体を介した抑制系が関与することが示唆された。興奮性神経経路間における相互調節には、抑制性神経の関与が必要だけでなく、神経回路によって、ポストシナプス側の興奮により活性化されたレトロメッセンジャーによるフィードバックな抑制作用も必要であることが示唆された。

3. ストレス状態における両経路の相互調節

海馬と扁桃体の機能はストレスにより大きく影響されることが数多く報告されている。ストレスがかかると、主に視床下部-下垂体-副腎軸 (HPA-axis) が活性化され、副腎からステロイドホルモンの分泌が増加され、それぞれ海馬と扁桃体にある受容体に作用し、その機能に影響する。ストレス状態における両経路の相互調節もストレスにより影響される可能性があるため、それについて検討した。

そこで、Foot Shock ストレスと拘束ストレスの二種類のストレスを用いて検討した。Foot

Shock ストレス後 BA 経路先行バースト刺激による Sch 経路の伝達抑制に変化が認められなかった (Fig. 5)。これに対して、拘束ストレス後 BA 経路先行バースト刺激による Sch 経路の伝達抑制がさらに増強されることがわかった (Fig. 6)。一方、Sch 経路先行刺激による BA 経路の伝達抑制においては、Foot Shock ストレスも拘束ストレスも有意な変化が認められなかった。Foot Shock ストレスと拘束ストレスがともに BA の活動を活性化させるが、両ストレスによる BA 経路伝達の増大に差がなかった。しかし、BA 経路先行刺激による Sch 経路

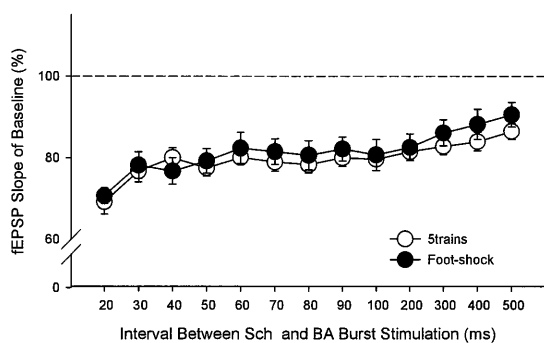


Fig.5 Foot Shock ストレスにおける抑制調節の変化
Foot Shock ストレス後 BA 経路先行刺激(5trains)による Sch 経路の伝達抑制がストレスなしの時と変化が認められなかった。(N=6)

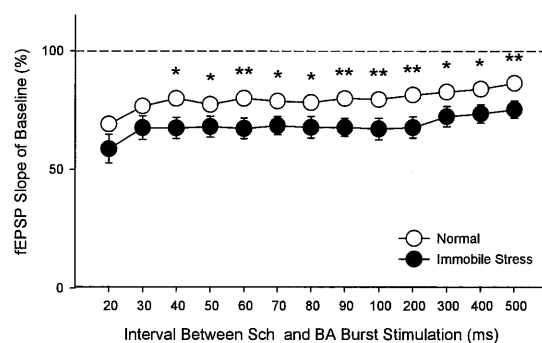


Fig.6 拘束ストレスにおける抑制調節の変化
拘束ストレス後 BA 経路先行刺激(5trains)による Sch 経路の伝達抑制がストレスなしの時に比べ、有意に大きくなった。(* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, Student's t -test after two-way ANOVA. N=6)

の伝達抑制に差が生じた。このことから、ストレスの種類によって、両経路伝達の相互調節への影響が異なることが示唆された。

4. BA 刺激による Sch 経路シナプス長期可塑性への調節

シナプス長期可塑性とはシナプス伝達効率の変化が長時間にわたって持続することで、海馬におけるシナプス長期可塑性は記憶学習の素過程として幅広く研究されている。BA 経路の刺激による Sch 経路のシナプス長期可塑性への調節は情動が記憶を調節するメカニズムの究明に非常に重要な意味を持っていると考えられるので、BA 経路刺激による Sch 経路のシナプス長期可塑性への調節について検討した。

まず、BA と Sch にシナプス長期可塑性の一つである長期増強 (LTP) が誘導できる θ バースト刺激を同時に与えて検討した。すると、Sch 経路の LTP 誘導が阻害された。また、BA 経路に単独の長期抑圧 (LTD) が誘導できる刺激を与えた直後と 20 分後にも Sch 経路の LTP 誘導が阻害された。つまり、BA 経路に可塑性が起こるような様々の活動が入ると、Sch 経路のシナプス長期可塑性が抑制されることが示唆された。

本研究は *in vivo* の電気生理学的実験を用いて、BA 経路と Sch 経路間のシナプス伝達および可塑性の相互調節について検討し、以下のことを明らかにした。

BA 経路と Sch 経路先行刺激がそれぞれ他方の通常伝達を抑制し、その入力の強さとタイミングに依存している。GABA_B 受容体と CB₁ 受容体を介した抑制系が関与するが、その程度は神経経路によって異なる。また、BA 経路と Sch 経路先行刺激による相互の伝達抑制はス

トレスによる影響が異なる。さらに BA 経路の様々な活性化によって Sch 経路の長期可塑性が抑制された。

BA のダイナミックな活動により、腹側海馬 CA1 野のシナプス伝達や可塑性が大きく抑制され、海馬の活動が調節されている。情動を司る扁桃体から恐怖不安などに関わると言われている腹側海馬への直接神経投射経路が腹側海馬内神経回路との相互調節及びそのメカニズムの解明によって、入力タイミングによって起きるシナプス可塑性に重要な知見を与えるだけでなく、情動による記憶への調節メカニズムの究明に大きく貢献できると思われる。また、この相互調節がストレス状態における変化とそのメカニズムを明らかにすることによって、ストレス由来の情動に関わる病気の原因究明につながることになると考えられる。