

論文内容の要旨

論文題目

Studies on the Functions of Neuromodulation during Information Processing in the Olfactory System of Goldfish (キンギョ嗅覚情報処理機構における神経修飾作用の研究)

氏名 河合 喬文

序論

多くの脊椎動物は周囲の環境情報を各種感覚神経系によって受容し、外界の刺激に適応した行動を行う。なかでも嗅覚系は、フェロモンやエサなどの匂い情報を処理することにより、本能的脳機構において重要な役割を担っている。

嗅覚系において、匂い情報は最初に嗅上皮中の嗅細胞によって受容され、次にこの情報が嗅覚情報の一次中枢である嗅球の神経回路において処理されるという過程を辿る(図 1)。そしてその嗅球神経回路からの出力が個体の行動に影響を及ぼすと考えられるが、このような嗅覚応答性は個体の置かれた環境に関わらず、常に固定化されたものなのであろうか。従来の行動学的研究から、個体の嗅覚応答性は、自らが置かれた環境に応じて柔軟に制御されていると考えられる。

そこで今回私は、嗅球神経回路の情報処理機構を環境に応じて適切に調節する因子として、嗅球内に存在する二つの神経修飾物質(GnRH, ドーパミン)に焦点を絞って研究を行った。

第一に、以下に挙げられるような特徴を持つ終神経 GnRH 系に焦点を当てた研究を行った。

1. 神経修飾作用をもつと考えられる、生殖線刺激ホルモン放出ホルモン(GnRH)を合成・放出。
2. 脳内の嗅覚・視覚・体性感覚を司る領域から終神経 GnRH ニューロンへの神経入力が存在。
3. 終神経 GnRH ニューロンから嗅球への密な軸索投射が存在。

以上のような知見から、終神経 GnRH 系は、各種感覚入力を統合し、それに応じて GnRH

を嗅球神経回路へと放出することで、個体の嗅覚応答性を調節することが考えられる。そこで、第一章と第二章では、GnRH が嗅球神経回路の情報処理機構を修飾する仕組みに着目した。

次に第三章では、嗅球内に内在することが知られているドーパミンニューロンに焦点を当てて研究を行った。ドーパミンは、神経修飾物質として脳内で幅広くその作用が知られている因子でもあるが、脳内の様々な領域において GnRH の機能と密接な関連をもつことが知られる因子でもある。本研究ではこのようなドーパミンが嗅球神経回路に対して及ぼす修飾作用に関して検証を行った。

なお、実験動物には (1)終神経 GnRH 系に関する知見が豊富であり、(2)嗅覚系に関する知見が豊富、かつ(3)生理学的な実験に適しているといった利点を併せもつ、硬骨魚キンギョを選択した。

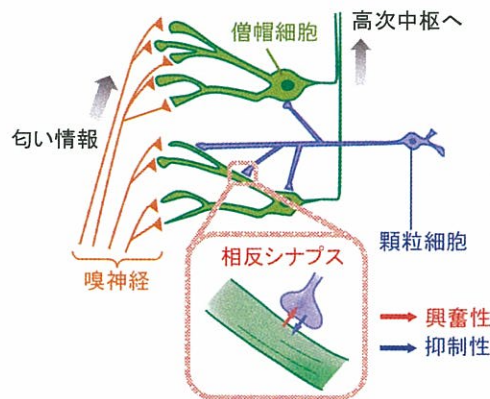


図 1 嗅球神経回路の模式図

嗅上皮で受け取られた匂い情報は、嗅神経を通して嗅球へと運ばれる。次に嗅球内の相反シナプスを介した神経回路で情報処理を受け、高次中枢へと運ばれる。相反シナプスでは、まず僧帽細胞は顆粒細胞に対して興奮性の入力を伝え、顆粒細胞はそれに応じて抑制性の入力を僧帽細胞へと戻す。

第一章. キンギョ終神経 GnRH 系で発現する GnRH の分子種とその嗅球内投射

まず第一章では、終神経 GnRH 系によるキンギョ嗅球神経回路への神経修飾作用を調べるための、分子生物学的・形態学的基盤を整えた。最初にキンギョ終神経 GnRH 系において発現している GnRH 分子種を *in situ hybridization* 法によって検証した。その結果、終神経 GnRH 系はサケ型 GnRH (sGnRH) と呼ばれる分子種の mRNA を主として発現していることが明らかとなった。次に GnRH 線維の嗅球内投射を調べるため、sGnRH ペプチドに対する抗体を用いて免疫組織化学法による形態学的解析を行った。その結果、sGnRH 線維は、嗅球内の内側領域・外側領域及び、僧帽細胞層・顆粒細胞層のいずれにも幅広く投射していることが明らかとなった。

私はさらに、キンギョ嗅球内における GnRH 受容体の発現に関して解析を行った。従来キンギョにおいて GnRH 受容体は二種類(GnRHRA, GnRHRB)しか同定されていなかったが、これに加えて未知の GnRH 受容体が存在する可能性を検証したところ、新たに 2 種類の受容体の配列が明らかになった(GnRHRC, GnRHRD)。そしてこれらに関して嗅球内における mRNA 発現を RT-PCR 法によって調べたところ、4 種類全ての GnRH 受容体の

発現が認められた。以上の結果より、終神経 GnRH 系は嗅球神経回路における匂い情報処理に広く関わっていることが強く示唆された。

第二章. キンギョ嗅球神経回路に対する GnRH ペプチドによる神経修飾作用の電気生理学的解析

次に私は GnRH の嗅球神経回路における作用に関して、電気生理学的な解析を行った。まず、匂いの識別に極めて重要な役割を果たすとされる僧帽細胞→顆粒細胞間のシナプス伝達(図 1)に着目し、このシナプス電位を集合電場電位として計測しながら薬剤投与を行うことが可能な *in vitro* 実験系を確立した。そしてこの系を用いた sGnRH 投与実験の結果から、GnRH は僧帽細胞→顆粒細胞間のシナプス伝達効率を濃度依存的に高めることが明らかとなった(図 2A)。またこのような作用は GnRH 受容体のアンタゴニストである Antide を投与することにより阻害されることから、GnRH 受容体に特異的な作用であることも確認された。次に詳細な電気生理学的解析の結果から、GnRH は僧帽細胞のシナプス前終末に作用し、シナプス小胞の放出確率を増大させていることが示唆された。さらにキンギョの僧帽細胞は、外側嗅索、内側嗅索のいずれかに軸索を伸ばしており、各々が異なる匂い情報を処理していることが示唆されているが、今回行った実験ではどちらの僧帽細胞群においても GnRH による効果が見られたことから、GnRH は特定の匂い情報に寄与しているのではなく、比較的広いカテゴリーの匂い情報処理を調節しているものと考えられた。以上の結果より、終神経 GnRH 系は嗅球神経回路における情報処理に対し、それを正の方向に制御する役割を果たしているものと考えられた。

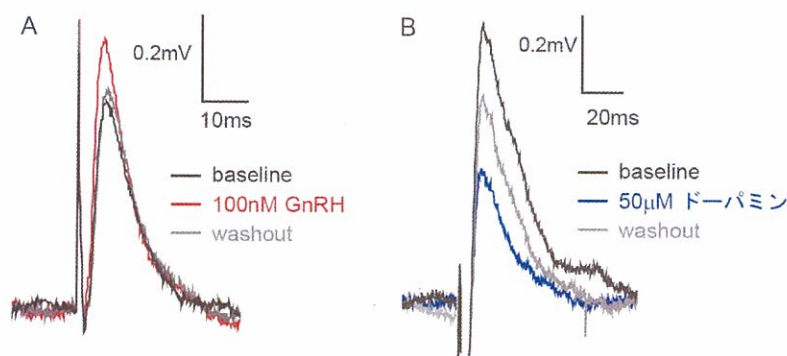


図 2 sGnRH(A)、及びドーパミン(B)投与による集合電場電位の変化
嗅球集合電場電位に対するsGnRHとドーパミンの神経修飾作用。sGnRHを投与することにより応答が増大し(A)、ドーパミンの投与により逆に減少した(B)。

第三章. キンギョ嗅球神経回路におけるドーパミンニューロンの特徴とその神経修飾作用

まずキンギョ嗅球内におけるドーパミン作動性ニューロンの分布と投射を、免疫組織化学法により詳細に調べた。その結果、ドーパミンニューロンはキンギョにおいては僧帽細胞層に細胞体が散在しており、豊富な線維が僧帽細胞層に認められた。また、ドーパミンニューロンは嗅神経層にも細かい突起を多数伸ばしており、嗅覚情報を直接受容しているものと考えられた。

次に、前述した *in vitro* 実験系を用いてドーパミンのキンギョ嗅球神経回路に対する作用を電気生理学的に検証したところ、ドーパミンは嗅球神経回路に対して GnRH と逆の修飾

作用をもつことが示唆された。すなわち、ドーパミンは、僧帽細胞→顆粒細胞のシナプス伝達を抑制しており(図 2B)、またその作用は僧帽細胞からのシナプス小胞の放出確率の抑制に起因すると考えられた。最後に、嗅球神経回路において匂い応答を記録し、この応答に対するドーパミンの作用を検証するという実験も行った。その結果、ドーパミンは匂い応答を明らかに抑制している様子が確認され、ドーパミンは嗅球神経回路における情報処理に対し、それを負の方向に制御する役割をもつと考えられた。

まとめと考察

終神経 GnRH 系は sGnRH を主として産生し、その線維を脳内に幅広く投射しているが、嗅球内にも密に投射が存在する。また、嗅球内には脳内に存在する 4 種類全ての GnRH 受容体が発現しており、終神経 GnRH 系による sGnRH を介した嗅球神経回路の修飾機構の存在が強く示唆された。そこで生理学的解析を行ったところ、GnRH は嗅球神経回路内のシナプス伝達を増大していることが明らかとなり、GnRH が嗅覚情報処理を促進するような神経回路の修飾作用をもつと考えられた。

一方で、嗅球に内在するドーパミンニューロンから放出されると考えられるドーパミンは、上記シナプス伝達に対して GnRH とは逆の作用を及ぼし、匂い応答を抑制した。嗅球内ドーパミンニューロンは嗅覚情報を受け取りながら嗅球神経回路に対して抑制を行うという負の内因性調節機構として働くと考えられる。このような機構に対し、過去に報告があるような、個体の内的環境によるドーパミン合成量の調節、遠心性入力によるドーパミンニューロン神経活動の修飾といった作用が影響を及ぼし、ドーパミン放出量を変化させることで、嗅覚応答性の柔軟な調節が可能になると思われる(図 3)。

以上のことから、キンギョ嗅球内には GnRH、ドーパミンという異なる経路の修飾機構が存在しており、個体はこれらの神経修飾を介して自らの置かれた環境に対して適応的にその嗅覚応答性を調節しているものと考えられる(図 3)。

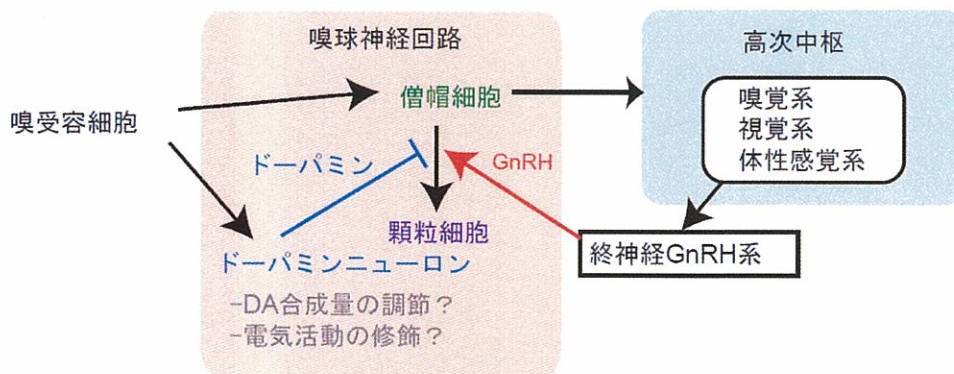


図3 本研究結果による作業仮説

GnRH、ドーパミンという異なる神経修飾機構の存在によって、個体は自らの嗅覚応答性を適応的に調節しているものと考えられる。