HamaMed-Repository
浜松医科大学学術機関リポジトリ
浜松医科大学
Hamamatsu University School of Medicine

Functional deficiency of MHC class I enhances LTP and abolishes LTD in the nucleus accumbens of mice

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2015-02-07 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 枝村, 光浩 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/2793

博士（医学）　　枝村　光浩

論文題目

Functional deficiency of MHC class I enhances LTP and abolishes LTD in the nucleus accumbens of mice

(主要組織適合遺伝子複合体クラスIの機能欠損はマウスの側坐核のLTPを亢進しLTDを消失する)

論文の内容の要旨

［はじめに］

主要組織適合遺伝子複合体（MHC）クラス I は哺乳動物の細胞性免疫系の主要分子として広く知られている。最近になってこの分子が脳細胞に発現していることがわかり、外側膝状体や海馬・小脳など中枢神経系の学習を担う場所でシナプス可塑性関連因子として働くことが示唆されている。側坐核は報酬や強化学習を担う脳部位であり、シナプス可塑性についてよく研究されている。しかしながら、側坐核のシナプス可塑性に MHC クラス I が関与するかについては知られていないため、本研究ではその可能性について検討した。まず、野生型マウスの側坐核ニューロンにおけるMHC クラス I の発現の有無を（1）免疫組織染色法で調べた。さらに、細胞表面における MHC クラス I の発現が著しく減少する β2m ノックアウト（$\beta2m^{-/-}$）マウスに対し、（2）電気生理学的評価、（3）行動解析、（4）免疫電子顕微鏡観察を行った。

［材料ならびに方法］

本研究は本学動物実験委員会の承認を得て行った。

（1）8～12 週齢野生型雄マウスを灌流固定後に脳を凍結し、側坐核を含んだ 30 μm のスライス標本を作製した。MHC クラス I およびニューロンのマーカーであるニューログラニンを二重染色し、その後蛍光ラベルし、共焦点顕微鏡で撮像した。

（2）電気生理学的評価は 8～12 週齢の $\beta2m^{-/-}$および野生型雄マウスの側坐核スライス標本を用い、細胞外電位記録を行った。マウスを断頭し、厚み 350 μm の旁矢状スライスを作成し、電気刺激により誘発される興奮性シナプス後場電位を継時的に記録し、100 Hz の高頻度刺激により誘起される長期増強（LTP）および 10 Hz の低頻度刺激により誘起される長期抑圧（LTD）を解析した。

（3）行動解析には 8～12 週齢の $\beta2m^{-/-}$および野生型雄マウスを用い、生理食塩水を反復投与した野生型マウス（WT-Sal）および $\beta2m^{-/-}$マウス（$\beta2m^{-/-}$-Sal）、コカインを反復投与した野生型マウス（WT-Coc）および $\beta2m^{-/-}$マウス（$\beta2m^{-/-}$-Coc）の 4 群に分けた。行動量測定ケージに入れ、3 日間生理食塩水の腹腔内投与を行った後、7 日間にわたって生理食塩水または 20 mg/kg のコカインを腹腔内投与して 60 分間行動量を測定した。その後 14 日間休薬し、再度コカインを腹腔内投与して行動量を測定した。

（4）免疫電子顕微鏡観察は SDS 処理凍結活断レプリカ標識法にて行った。前述の 4 群を断頭しレプリカを調整した。総 AMPA 受容体およびそのサブユニットである GluR1、GluR2 それぞれのウ

サギ一次抗体にレプリカを 15℃で一昼夜反応させた後、5 nm の金コロイド標識二次抗体と反応させた。興奮性シナプスを撮像し、各受容体タンパク質の密度を解析した。

［結果］

（1）免疫染色により、MHC クラス I 分子が側坐核のニューロンに存在することを確認した。

（2）電気生理学的解析から、野生型マウスの側坐核スライス標本では低頻度刺激により LTD が誘起されるが、$\beta2m^{-/-}$マウスでは同じ刺激で LTD が誘起されなかった。また、$\beta2m^{-/-}$マウスでは高頻度刺激により誘起される LTP が野生型マウスより亢進していた($p<0.05$)。

（3）$\beta2m^{-/-}$-Coc 群では WT-Coc 群と比較し、薬物依存形成の指標とされる行動感作が著しく増加した($p<0.05$)。また、休薬後 14 日にも高いレベルの行動感作が維持されていた($p<0.001$)。

（4）休薬後 14 日の時点での側坐核ニューロンにおける興奮性シナプス上の総 AMPA、GluR1、GluR2 の密度を SDS 処理凍結活断レプリカ標識法により解析したところ、WT-Sal 群に対して WT-Coc 群では GluR1 の密度の増加が認められた（$p<0.05$）。一方 β2m-Sal 群に対して $\beta2m^{-/-}$-Coc 群では総 AMPA、GluR1、GluR2 すべてにおいて密度の増加が認められた($p<0.05$)。コカインの慢性投与を行わなかった WT-Sal と $\beta2m^{-/-}$-Sal の両群間で総 AMPA、GluR1、GluR2 の密度に差は認められなかった。

［考察］

$\beta2m^{-/-}$マウスでは側坐核の LTP が亢進し、LTD が消失していた。先行研究により、MHC クラス I 機能欠損マウスでは海馬の LTP が亢進し、LTD が消失することが明らかにされている。したがって、MHC クラス I は海馬と同じメカニズムで側坐核の LTP、LTD を調整していることが推測される。行動感作は前頭前皮質から側坐核コアへのグルタミン酸作動性ニューロンのシナプス結合が異常に強まった状態により起こるとされる。免疫電顕解析により、行動感作を引き起こした野生型マウスでは側坐核興奮性シナプス上の GluR1 の密度が上がることを見出した。加えて、ノックアウトマウスでは総 AMPA 受容体および GluR2 の密度も上がることを見出した。このことから、$\beta2m^{-/-}$マウスではコカイン刺激により誘発されるシナプス増強が野生型マウスより亢進することが示唆された。

［結論］

MHC クラス I 分子の機能欠損マウスでは、側坐核において電気刺激および薬理学的刺激により誘起されるシナプスの増強が野生型マウスより亢進し、また、電気刺激により誘起されるシナプスの減弱が消失することが示唆された。