



Long - term depression at olfactory nerve synapses

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2013-08-27 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 武藤, 弘樹 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/384

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 4 4 5 号	学位授与年月日	平成 1 9 年 9 月 2 1 日
氏 名	武 藤 弘 樹		
論文題目	Long - term depression at olfactory nerve synapses (嗅神経シナプスにおける長期抑圧)		

博士(医学) 武 藤 弘 樹

論文題目

Long - term depression at olfactory nerve synapses

(嗅神経シナプスにおける長期抑圧)

論 文 の 内 容 の 要 旨

[はじめに]

様々な動物において嗅覚は、外界からの情報として莫大な数の匂い分子を識別し、これらの匂い情報の学習や記憶をすることで、食行動、生殖行動、天敵・危険回避行動などの生命活動に非常に重要な役割を果たしている。この嗅覚の匂い情報処理において重要な役割を果たしている嗅球は少ない種類の細胞で比較的簡単な神経回路網を構築し、また匂いの学習や記憶にも関与しているものと考えられている。嗅覚の中で比較的よく研究されている学習は、条件刺激として新生児の体を撫でながらある匂いを嗅がせることでその匂いを好むというものである。この学習は新生児期にだけ生じる特別なものである。しかしながら、この学習に伴う嗅球内でのシナプス可塑性についての報告はこれまでにない。そこで、感覚神経と脳とが最初に情報を交換し合う嗅神経終末と僧帽細胞の樹状突起の間に形成されるシナプスにおいて、この学習に伴う可塑性が存在するのか検討した。

[材料ならびに方法]

この研究において、新生児期に特有な学習と可塑性との関連を調べるために、生後5日から8日目の野生型新生児マウスを使用し、大脳皮質と共に嗅球を水平方向に切ることによって嗅球組織切片を作製した。また、電気生理学的手法として細胞外記録とパッチクランプ法を用い、またカルシウム感受性色素による光学的測定も用いることで嗅球より興奮性シナプス後電位 (EPSP) やカルシウムシグナルの記録を行い、それらの振幅が高頻度刺激や薬物投与によりどのように変化するのかを解析した。

[結果]

最初に、新生児期の嗅球における電気生理学的特性の報告がないため、嗅神経と僧帽細胞の間のシナプスで記録されるEPSPの性質について検討した。嗅神経を刺激することで誘発されるEPSPは、AMPA型グルタミン酸受容体の阻害剤であるNBQXとNMDA型グルタミン酸受容体の阻害剤であるD-AP5に強い感受性を示し、このEPSPは主にAMPA型またはNMDA型グルタミン酸受容体により構成されていることが示唆された。

次に可塑性の存在を調べるため、EPSPが安定したところで20 秒間、5 Hzの高頻度刺激を与えたところ、部分的なEPSPの回復は見られるものの持続的なEPSPの減少が長期にわたって記録され、小脳などで報告されている長期抑圧の存在が嗅球において初めて発見された。この長期抑圧は、D-AP5やシナプス後細胞内液に高濃度のカルシウムキレート剤であるBAPTAを作用させても影響がなかった。

さらに、長期抑圧が生じている間に嗅神経終末から神経伝達物質の変化を観察するために、嗅神経だけをカルシウム感受性色素で染色した嗅球組織切片を用いた。嗅神経軸索を刺激することで嗅糸球体におけるカルシウムシグナルを記録した後、高頻度刺激を与えたところ持続的なカルシウムシグナルの減少が生じ長期抑圧が観察された。また、このカルシウムシグナルの長期抑圧は、シナプス後細胞の活動

をNBQXとD-AP5で同時に阻害した状態でも観察された。嗅球の長期抑圧のさらなる分子メカニズムを調べるために、グループ I と II の代謝型グルタミン酸受容体阻害剤のMCPGを加えてみたところ長期抑圧の抑制が観察された。また、高頻度刺激の代わりとしてグループ I 代謝型グルタミン酸受容体のアゴニストDHPGを短時間投与することでも長期抑圧を誘発することが出来た。

[考察]

補足実験の結果、新生児期の学習に重要とされる β アドレナリン受容体のアゴニストは嗅球の長期抑圧に影響を示さず、また生後30日以降のマウスでも長期抑圧が観察されたため、この可塑性が新生児期に特別な学習と関与している可能性は少ないと思われる。

嗅神経は約30日ごとに新しいものに置き換わり続けるため、嗅神経終末は嗅糸球体で繰り返しシナプス形成を行わなければならない。そのため、この可塑性の他に考え得る生理学的意義としては、嗅神経の活動に依存した長期抑圧が存在することにより、嗅神経終末が間違えて形成したシナプスを修正することで正確な嗅糸球体への投射をコントロールし、嗅球表層にみられる「匂いの地図」の維持に関与しているものと考えられる。また、強力な匂いを嗅いだ時の脱感作などにも関与している可能性が考えられる。今後、さらなる長期抑圧の分子メカニズムの解明と嗅覚における生理学的意義を検討するために*in vivo*での実験が必要とされる。

[結論]

今回の研究において、我々は、嗅神経と僧帽細胞の間に形成されるシナプスに長期抑圧が存在することを初めて報告した。この長期抑圧は、匂いを受容する感覚神経である嗅神経の活動に依存的であり、グループ I 代謝型グルタミン酸受容体の活性化が必要であることが明らかになった。また、グループ I 代謝型グルタミン酸受容体が活性化することで嗅神経終末におけるカルシウム流入の減少を惹起し、その結果として嗅神経終末からの神経伝達物質の放出が減少することにより嗅球の長期抑圧が生じていることが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

動物は、外界からの情報として莫大な数の匂い分子を識別し、これらの匂い情報を学習・記憶することで、食行動、生殖行動、天敵・危険回避行動などの生命活動を円滑に行っている。この嗅覚の匂い情報処理において重要な役割を果たしている嗅球は、限られた種類の細胞で比較的簡単な神経回路網を構築し、また匂いの学習や記憶にも関与しているものと考えられている。しかしながら、嗅球内でのシナプス可塑性についての報告はこれまでにない。そこで、申請者は、感覚神経と脳とが最初に情報を交換し合う嗅神経終末と僧帽細胞の樹状突起の間で形成されるシナプスにおいて、可塑性が存在するという仮説について検討を加えた。

生後5日から8日目の野生型新生時期マウスを使用し、大脳皮質と共に嗅球を水平方向に切ることで嗅球組織切片を作製した。電気生理学的手法として細胞外記録とパッチクランプ法、またカルシウム感受性色素による光学的測定も用いることで、嗅球より興奮性シナプス後電位 (EPSP) やカルシウムシグナルの記録を行い、それらの振幅が高頻度刺激や薬物投与によりどのように変化するかを解析した。

まず、嗅神経と僧帽細胞の間のシナプスで記録されるEPSPの性質について検討を加えた。嗅神経を刺

激することで誘発されるEPSPは、AMPA型グルタミン酸受容体の阻害剤であるNBQXとNMDA型グルタミン酸受容体の阻害剤であるD-AP5に強い感受性を示し、このEPSPは主にAMPA型とNMDA型グルタミン酸受容体により構成されていることが明らかとなった。

次に可塑性の存在を調べるため、EPSPが安定したところで20秒間、5 Hzの高頻度刺激を与えたところ、部分的なEPSPの回復は見られるものの持続的なEPSPの減少が長期にわたって記録され、小脳などで報告されている長期抑圧が、嗅球にも存在することが明らかとなった。この長期抑圧は、D-AP5やシナプス後細胞内液に高濃度のカルシウムキレート剤であるBAPTAを作用させても影響がなかったため、プレシナプスが関与するものと考えられた。

さらに、嗅神経だけをカルシウム感受性色素で染色した嗅球組織切片を用い、嗅糸球体におけるカルシウムシグナルを記録し高頻度刺激を与えたところ、持続的なカルシウムシグナルの減少が生じ長期抑圧が観察された。また、このカルシウムシグナルの長期抑圧は、シナプス後細胞の活動をNBQXとD-AP5で同時に阻害した状態でも観察された。嗅球の長期抑圧のさらなる分子メカニズムを調べるために、グループ I と II の代謝型グルタミン酸受容体阻害剤のMCPGを加えてみたところ長期抑圧の抑制が観察された。また、高頻度刺激の代わりとしてグループ I 代謝型グルタミン酸受容体のアゴニスト DHPGを短時間投与することでも長期抑圧を誘発することが出来た。

以上の実験より、嗅神経と僧帽細胞の間に形成されるシナプスに長期抑圧が存在することが確認された。この長期抑圧は、匂いを受容する感覚神経である嗅神経の活動に依存的であり、グループ I 代謝型グルタミン酸受容体の活性化が必要であることが明らかになった。また、グループ I 代謝型グルタミン酸受容体が活性化することで嗅神経終末におけるカルシウム流入の減少を惹起し、その結果として嗅神経終末からの神経伝達物質の放出が減少することにより嗅球の長期抑圧が生じているものと考えられた。

嗅神経は嗅糸球体で繰り返しシナプス形成を行なっている事が知られている。嗅神経の活動に依存した嗅球の長期抑圧が存在することにより、嗅神経終末が間違えて形成したシナプスを修正することで正確な嗅糸球体への投射をコントロールし、嗅球表層にみられる匂いの地図を維持することに関与している可能性が考えられる。また、強力な匂いを嗅いだ時の脱感作などにも関与している可能性も考えられる。今後、さらなる長期抑圧の分子メカニズムの解明と嗅覚における生理学的意義を検討するために *in vivo* での実験が必要とされる。

審査委員会では、嗅神経と僧帽細胞の間に形成されるシナプスに長期抑圧が存在することを初めて報告した点を高く評価した。

審査の過程において、申請者に対して次のような質問がなされた。

- 1) 嗅覚の立体構造モデルとは
- 2) どのように無数の匂い物質を識別できるのか
- 3) ICRマウスを使った理由
- 4) adrenergic receptorを介した学習について
- 5) 高頻度刺激の定義について
- 6) カルシウムチャネルの阻害メカニズムについて
- 7) 長期抑圧はエンドサイトーシスとの関係を有するか
- 8) グルタミン酸受容体に変化する可能性
- 9) 神経可塑性の系統発生上の位置づけ

これらの質問に対し申請者の解答は適切であり、問題点も十分理解しており、博士(医学)の学位論文にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者	主査	佐藤康二			
	副査	寺川進	副査	中原	大一郎