

審査の結果の要旨

氏名 飯野 祐介

本研究は連合学習の教師信号として働くと考えられている一過性のドーパミン濃度変化の検出機構を調べるため、マウスの側坐核スライスにおいて光遺伝学によって一過性のドーパミン濃度変化を再現し、ドーパミン D1 受容体・D2 受容体陽性の神経細胞の樹状突起スパイン形態可塑性やプロテインキナーゼ A (PKA) 活性への影響を調べたものであり、下記の結果を得ている。

1. AAV (アデノ随伴ウイルス) によって同定した D2 受容体陽性神経細胞 (D2 細胞) の樹状突起スパイン形態可塑性の誘発条件を探索した結果、二光子グルタミン酸アンケージングと電流注入による発火を組み合わせたスパイクタイミング依存的可塑性 (STDP) プロトコルによる刺激に加えてアデノシン A2A 受容体が刺激されると単一スパインレベルでスパインの増大が誘発されることを二光子イメージングにより示した。薬理的調査の結果、D2 細胞のスパイン増大には NMDA 受容体、CaMKII の活性化、PKA の活性化が必要であることが示された。
2. スライス上で定常状態のドーパミン濃度と一過性濃度変化を再現するため、ドーパミン神経特異的に青色光感受性のカチオンチャネルである ChR2 を導入し、急性スライス上で電気化学的手法を用いて青色光刺激により放出されたドーパミンの濃度を測定した。条件検討の末、定常状態のドーパミン濃度と一過性の減少、上昇を再現できる刺激条件を同定した。
3. 定常状態のドーパミンとドーパミン濃度の一過性変化が D2 細胞の形態可塑性に及ぼす影響を調査した結果、STDP 刺激+A2A 刺激で誘発されるスパイン増大は定常状態のドーパミン濃度で抑制され、STDP 刺激と同期したドーパミンの一過性減少により脱抑制されることが示された。スパイン増大の程度はドーパミン一過性減少の長さと同様に関連していた。一方、ドーパミンの一過性上昇は D2 細胞の形態可塑性に影響を及ぼさなかった。
4. FRET プローブを用いて D2 細胞の PKA 活性を二光子イメージングにより計測した結果、活動電位と A2A 刺激薬の組み合わせにより樹状突起 PKA が活性化されることが示された。形態可塑性と同様に、樹状突起 PKA の活性化は定常状態のドーパミンにより抑制され、一過性のドーパミン減少により脱抑制されることが示された。
5. 定常状態のドーパミンと一過性ドーパミン上昇が D1 細胞に与える影響を調べた結果、定常状態のドーパミンは D1 細胞樹状突起 PKA の活性化やスパイン増大には不十分であり、一過性のドーパミン上昇によって PKA 活性化やスパイン増大が起きる

ことが示された。

6. D1 細胞、D2 細胞ともに、定常状態のドーパミンに加えて PDE 阻害薬を加えるとスパイン増大が誘発されることが示された。

以上、本研究はマウス側坐核急性スライスにおいて、D1 細胞がドーパミン定常状態からの一過性上昇を、D2 細胞がドーパミン定常状態からの一過性減少をそれぞれ特異的に PKA レベルで検出し、スパイン形態可塑性を誘発することを明らかにした。本研究によって明らかになった一過性ドーパミン変化の検出機構はドーパミン伝達異常が関与するといわれている精神疾患の病態理解や治療薬開発に貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。