

論文の内容の要旨

論文題目：Physiological studies on neuromodulation of sensory system by peptidergic neurons
(感覚情報処理回路におけるペプチドニューロンを介した神経修飾機構の研究)

氏名：馬谷 千恵

序論

多くの脊椎動物は周囲の環境や自身の生理状態に応じて、適切な行動を行う。その際には、からだの内外からの様々な入力がある。脳は感覚神経回路を介して統合的に処理され、行動パターン形成回路に出力されることにより、適応的な行動を可能にすると考えられる。しかしながら、感覚入力や生理状態の情報を統合し、行動を変化させる脳内機構については未解明の部分が多い。私は今回、環境や生理状態に応じて神経回路を適切に調節する因子の一つとして、終神経GnRH系に注目して研究を行った。終神経GnRH系は、①脳内の様々な感覚系からの入力を受ける (Yamamoto *et al.*, 2000)、②神経修飾作用をもつと考えられる生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン(GnRH3)を産生、③終神経(TN)-GnRH3ニューロンから感覚神経系や行動に関わる脳領域、特に視覚神経系への密な投射が存在する、という3つの特徴をもっている (Karigo & Oka, 2013)。

そこで、私はこの終神経 GnRH 系がどのように活動の調節を受け、どのようなときに活性化されるのか、そして投射先においてどのような作用を示すのか、という点に着目して生理学的に解析を行った。実験動物には、実験系が確立され終神経 GnRH 系の知見が豊富なドワーフグーラミーと、遺伝子工学的手法が容易に適用できるメダカの全脳 *in vitro* 標本を用いた。

第1章 TN-GnRH3ニューロンの発火活動調節機構（ドワーフグーラミー）

これまでの当研究室の研究により、終神経GnRH系の神経活動を調節する因子として、GnRH3、NPFF [自己・傍分泌]、グルタミン酸(Glu)、GABA、アセチルコリン(ACh) [シナプス入力] が報告されてきた。さらに、形態学的解析から、C末端のアミノ酸がRFで終わるRFamideペプチドファミリーに属するRFRP (RFamide Related Peptide)がTN-GnRH3ニューロンの発火活動をシナプス入力として調節することが示唆された。そこで、私はRFRPがTN-GnRH3ニューロンに及ぼす作用をホールセルパッチクランプ法により解析した。その結果、RFRPは特異的受容体を介して直接TN-GnRH3ニューロンのleak K^+ channelを開き、TRPC channelを閉じることで発火活動を抑制することが示唆された。RFRPは拘束ストレス等で発現が上昇することから (Kibry *et al.*, 2009)、RFRP作動性入力は、ストレス等の生理状態の変化に応じた自発発火活動の調節に寄与していると考えられる。

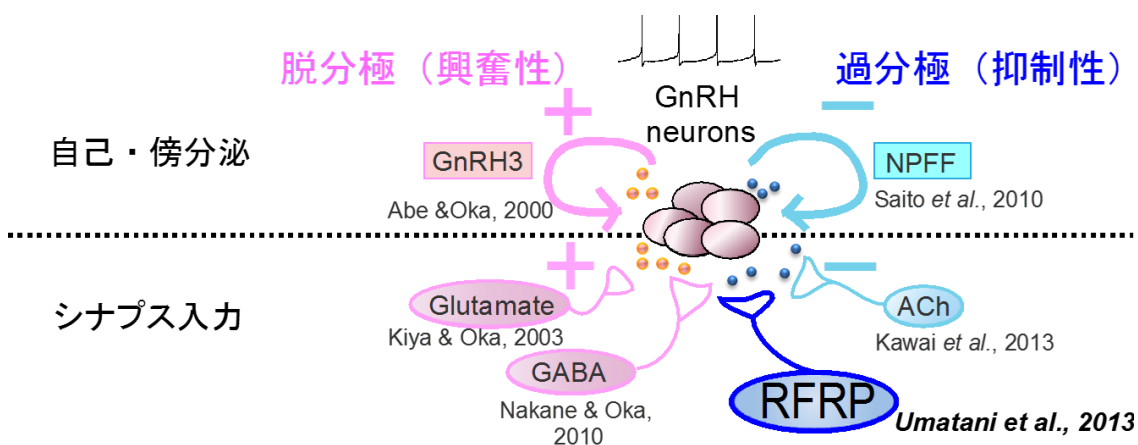


図1：終神経GnRH系の自発発火活動を調節する神経伝達・修飾物質

第2章 TN-GnRH3ニューロンの高頻度発火活動とペプチド放出（メダカ）

TN-GnRH3ニューロンの解析を進める過程で、TN-GnRH3ニューロンの発火頻度・発火パターンが性成熟前（幼魚）と性成熟後（成魚）で異なることを発見した。一方、GnRH系を含め、ペプチドニューロンは一般に高頻度発火（特に、間歇的な発火パターン）をする際に、神経ペプチドを効率よく放出することが示唆されている。そこで、間歇的発火の生じやすい幼若期の終神経GnRH系がその機能解析に有用であると考え、成魚に加えてメダカの幼魚を用いて、高頻度発火が生じる条件を電気生理学的手法により解析した。まずは、興奮性神経伝達物質であるGluを、シナプス入力を模倣して一過的かつ局所的に投与したところ、幼魚/成魚両者のTN-GnRH3ニューロンにおいて高頻度発火が生じた。一方、神経ペプチドの放出が起きる際、細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇が必要であることが報告されていることから、TN-GnRH3ニューロンの Ca^{2+} イメージングを行ったところ、高頻度発火が生じた時と同じ実験条件でGluを投与したときのみ、ペプチド放出を示唆する細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇が見られた。TN-GnRH3ニューロンには興奮性にはたらくGABAのアゴニスト（Mus）を一過的かつ局所的に

投与した際も幼魚/成魚両者において発火頻度の上昇が観察された。以上の結果から、幼魚/成魚両方においてTN-GnRH3ニューロンは興奮性シナプス入力により高頻度発火し、神経ペプチドを放出する能力をもつことが示唆された。

第3章 TN-GnRH3ニューロンの投射先における神経修飾機構 (ドワーフグーラミーの視覚神経系)

最後に終神経GnRH系が軸索投射をしている脳部位に及ぼす作用について調べた。TN-GnRH3ニューロン軸索は真骨魚類の視覚中枢である視蓋に密に投射していることから、視神経-視蓋神経細胞間の神経伝達が、TN-GnRH3ニューロンから放出されるGnRH3によりどのように調節されるか、ホールセルパッチクランプ法と細胞外電場電位記録法を用いて解析した。その結果、GnRH3の投与により、Ca²⁺依存性K⁺(BK) channelが開いて視蓋のSPVニューロンの興奮性が低下し、視神経-視蓋神経細胞間の神経伝達を示す電場電位の立ち上がり時間と半値幅が増大することが示唆された。TN-GnRH3ニューロンを外科的に破壊したグーラミーの行動実験の結果、TN-GnRH3ニューロンが性行動の動機付けを促進するような神経修飾作用をもつと考えられている (Yamamoto *et al.*, 1997)。上述のGnRH3による神経修飾作用は、視蓋神経細胞の視覚応答の「慣れ」や「飽和」の防止を通じて行動を調節することが示唆される。

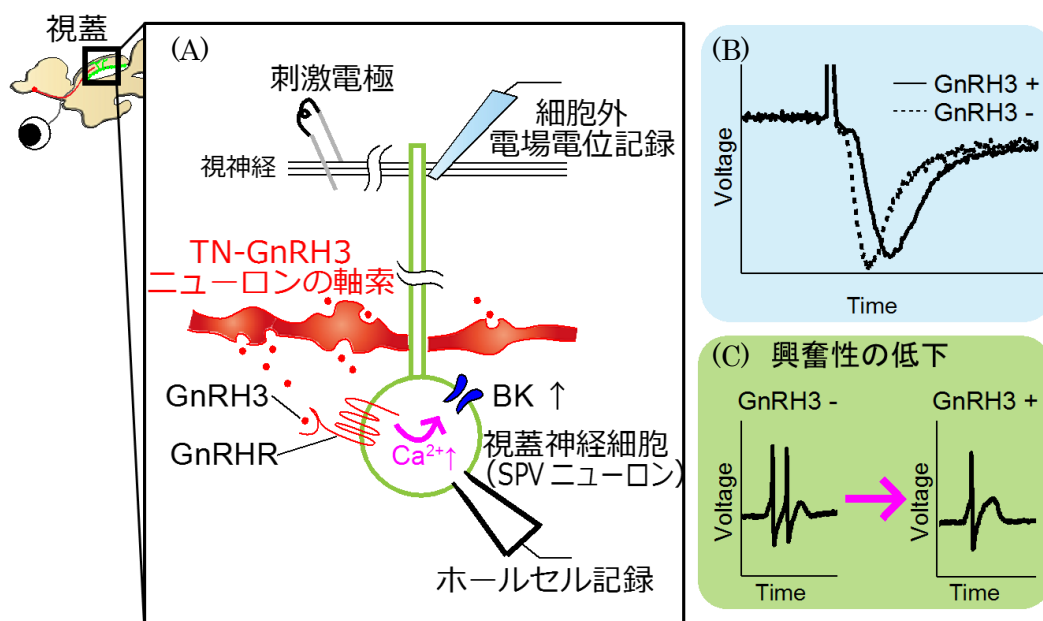


図2：視蓋においてGnRH3が示す神経修飾の機構

左下の脳の矢状断模式図のうち、四角の領域を拡大した視蓋の模式図 (A)。視蓋における投射ニューロンのSPVニューロンでGnRH3が受容されると、BK channelが開いてK⁺が流出し (A)、SPVニューロンの興奮性が低下 (活動電位の数が減少) する (C)。その結果、視神経とSPVニューロン間の神経伝達を反映する細胞外電場電位が変化する (B)。(Umatani *et al.*, 2015改変)

まとめと考察

終神経GnRH3ニューロンの自発発火活動は、自己・傍分泌入力及び通常のシナプス入力だけでなく、RFRPというペプチド性の入力によっても調節されることが明らかになった。特に、GluやGABAの入力が多く入った際にTN-GnRH3ニューロンは高頻度発火活動を示し、神経ペプチドを放出することが示唆された。そして、成魚の視覚神経回路においては、TN-GnRH3ニューロンから放出されるGnRH3により、視神経－視蓋神経細胞間の神経伝達が修飾されることが明らかになった。

以上の結果から、個体が環境や生理状態に適応した行動をおこなう際、終神経GnRH系が環境や生理状態の情報をGluやGABA、RFRPなどの入力を介して受け取り、自発発火頻度を変えて神経ペプチドの放出を介して上述のような情報を統合し、投射先である感覚神経系の活動を調節することで、環境に適応した行動を起こすという脳内機構が考えられる。

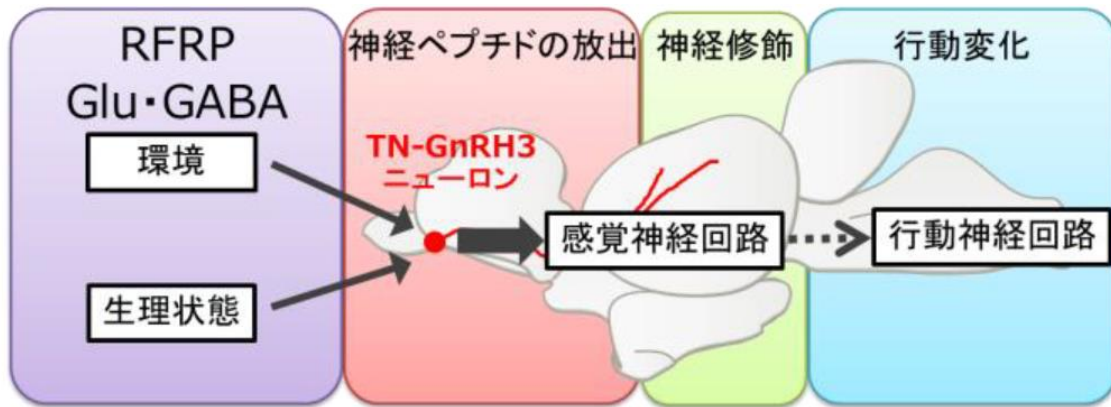


図3：本研究から示唆される、環境に応じて適応的な行動を起こす脳内の機構