

【別紙 2】

審査の結果の要旨

氏名： 柳下 祥

本研究は脳内報酬シグナルであるドーパミンが可塑性を調節する時間特性を明らかにするために、マウス脳スライスにおいて 2 光子刺激による単一スパインのグルタミン酸シグナル操作と光遺伝学によるドーパミン・シグナル操作を独立して調査したものであり、下記の結果を得ている。

1. マウス脳スライスにおいて側坐核の D1 受容体を発現する中型型有棘細胞から全細胞記録を行い、単一スパインにグルタミン酸の 2 光子刺激と電流注入によりスパイクタイミング依存的可塑性(STDP)刺激を単一のスパインに与えたところ、形態可塑性はわずかしかみられなかった。しかし、生体における反応を模したドーパミンの一過性の発火刺激を STDP 刺激のすぐ後に与えたところ顕著な形態可塑性が生じることを見出した。STDP 刺激に対して様々な時間枠でドーパミン刺激を与えた結果、STDP 刺激の 0.6 秒後においてももっとも強い反応があることを示した。この形態可塑性はグルタミン酸 2 光子刺激による電流値の増加（長期増強）を伴っていた。
2. 側坐核スパインの形態可塑性にかかわるシグナル伝達系を薬理的に調べたところ、NMDA 受容体、CaMKII、タンパク質合成といった、海馬におけるスパインの形態可塑性と同様のシグナル伝達系が必要であることが明らかになった。また、ドーパミン D1 受容体および下流の PKA も関与していた。
3. ドーパミンが可塑性を修飾する分子シグナルを調査するため、ドーパミンが CaMKII の活性を修飾する時間枠を FRET プローブにより測定した。STDP 刺激だけではスパインの CaMKII 活性のわずかな上昇しか認められなかったが、可塑性を増強する時間枠と同様の時間枠でドーパミンはスパイン CaMKII 活性を増強した。薬理的な検討からドーパミンは PKA-DARPP32-PP-1 経路を介して CaMKII の脱抑制をすることで可塑性を制御しているものと考えられた。
4. PKA の活性を FRET プローブにより測定したところ、活動電位とドーパミンの刺激によりスパインおよび樹状突起で PKA の活性が上昇したが、ドーパミンの刺激だけでは樹状突起での PKA 活性の上昇はみられなかった。活動電位に対してさまざまな時間枠でドーパミンの刺激をあたえたところ、可塑性の時間枠と類似した時間枠でのみ、PKA の活性上昇がみられた。一方、細胞体においてはドーパミン刺激のみで PKA の活性上昇がみられた。アデニル酸シクラーゼ 1 の阻害剤により PKA の活性もスパインの形態可塑性も阻害された。また、ホスホジエステラーゼ 10A 阻害剤であるババペリンを投与すると、ドーパミンの刺激だけで樹状突起の PKA 活性の上昇がみられた。これらの結果から、ド

ドーパミン作用の時間枠は細い形状の樹状突起における cAMP の産生と分解の制御により形成されると考えられた。

以上、本論文は、単一スパインでドーパミンが強化的に作用できる時間枠があり、その時間枠の形成には cAMP の産生および分解が関与していることを明らかにした。本研究はこれまで未知であったドーパミン作用の時間枠とその分子基盤を明らかにすることで、報酬学習の基盤となりうるシナプス可塑性の理解に重要な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。