

論文審査の結果の要旨

論文提出者氏名 古田島 浩子

小脳において正中に位置する虫部の傷害は、立位姿勢の障害、歩行失調、衝動性眼球運動の障害等を生じ、現在までに数多くの神経生理学的研究により、この部位が姿勢や歩行などの運動の制御と適応・学習に重要な役割を果たしていることが証明されている。その一方で、小脳虫部の微小電気刺激実験や破壊実験は、この部位が血圧や心拍などの循環調節にも関与していることを示してきた。神経解剖学的にも小脳虫部のプルキンエ細胞の軸索は室頂核に投射し、さらに室頂核から結合腕傍核、そして延髄腹外側部に同定されている循環調節の中樞へと神経回路が構成されていることが報告されている。条件刺激として音刺激、無条件刺激として痛みを伴う電気刺激を時間的に組み合わせて条件付け学習を行うと、条件刺激に対する心拍数の漸進的な減少、すなわち恐怖条件付け徐脈が生じる。従来までに、小脳虫部の吸引除去による破壊実験等でこの恐怖条件付け徐脈の獲得および発現に小脳虫部が関与していることが報告されているが、恐怖条件付け徐脈における小脳機能については未だ不明な点が多く残されている。本論文は、小脳皮質のプルキンエ細胞へ登上線維を送る下オリーブ核ニューロンの破壊による恐怖条件付け徐脈への影響や、顆粒細胞の軸索である平行線維とプルキンエ細胞との興奮性シナプスの形成障害を有するマウスにおける恐怖条件付け徐脈について詳細に検討し、恐怖条件付け徐脈における小脳機能について研究を進めている。

本論文は、序論を含めて全5章からなる。序論は研究の背景と目的、第2章は下オリーブ核破壊による恐怖条件付け徐脈への影響、第3章は $\delta 2$ 型グルタミン酸受容体変異による恐怖条件付け徐脈への影響、第4章は小脳皮質へのグルタミン酸受容体阻害薬注入による条件付け徐脈への影響について論じ、第5章では総合論議となっている。

第2章では、小脳皮質プルキンエ細胞の発火活動およびシナプス可塑性の発現に重要な役割を有する下オリーブ核一登上線維系を3-acetylpyridine (3-AP)を用いて薬理的に破壊し、恐怖条件付け徐脈への影響を調べた。マウスの腹腔内に3-APを投与することにより、下オリーブ核ニューロンの細胞死を誘導し、恐怖条件付け実験の終了後には脳の組織化学的解析により、下オリーブ核ニューロンが選択的に破壊されていることを確認した。下オリーブ核が破壊されたマウスは条件刺激として用いる音刺激に対しては、正常野生型マウスと同様に馴化したが、音刺激と尾部への電気刺激を組み合わせた恐怖条件付けに対しては条件付け徐脈応答が発現しなかった。また、無条件刺激としての尾部への電気刺激単独の呈示後には正常野生型マウスは電気刺激後に頻脈応答を示すが、下オリーブ核が破壊されたマウスの頻脈応答は減弱していた。これらの結果から、下オリーブ核一登上線維系が無条件刺激としての情報を小脳に伝送し、さらに、恐怖条件付け徐脈の獲得および発現に必要とされることが示唆された。

第3章では、小脳プルキンエ細胞に特異的に発現する $\delta 2$ 型グルタミン酸受容体(GluD2)の機能欠失変異体の一種の *ho15J* マウスにおける恐怖条件付け徐脈を調べた。この *ho15J* マウスは、小脳皮質の顆粒細胞の軸索である平行線維とプルキンエ細胞との興奮性シナプスの形成障害、さらにこの興奮性シナプスにおける可塑性として長期抑圧の発現が障害されている。*ho15J* マウスは正常野生型マウスと同様に音刺激に馴化を示した。この実験では音刺激と尾部への電気刺激による恐怖条件付けは1日50試行、5日間行った。その1日目において *ho15J* マウスは正常野生型マウスと同様に条件付け徐脈を獲得した。しかしながら、保持相としての2-5日目において正常野生型マウスは4日間安定した条件付け徐脈を呈したが、*ho15J* マウスは各日の最初の10試行において徐脈の異常な亢進を示し、各日の試行中に正常野生型マウスにおける条件付け徐脈のレベルに近づいていくという変動したパターンを有していた。これらの結果から、GluD2の変異による平行線維-プルキンエ細胞シナプスの形成障害や長期抑圧の欠損は、恐怖条件付け徐脈の獲得には影響しないが、獲得した条件付け徐脈の保持相における発現に影響を及ぼすことが示唆された。

第4章では、*ho15J* マウスが示した恐怖条件付け徐脈の発現に小脳皮質が本質的に関わっているのかどうか検討するためにAMPA型グルタミン酸受容体の阻害薬(NBQX)を小脳皮質に投与し恐怖条件付け徐脈への影響を調べた。NBQXは小脳皮質の正中虫部に設置されたプローブから投与され、組織化学的解析から虫部の前葉にNBQXが投与されていたことを確認した。NBQXの投与は *ho15J* マウスにおいても正常野生型マウスと同様にそれらの条件付け徐脈を減弱した。一方で、正常野生型マウスにおいて生理的食塩水を投与しても条件付け徐脈に影響は観察されなかった。これらの結果から、*ho15J* マウスにおける恐怖条件付け徐脈の発現には小脳皮質が本質的な役割を果たしていることが示唆された。

以上の結果をふまえ、第5章で総合論議を行っている。第2章の結果から、恐怖条件付け徐脈の獲得および発現には延髄下オリーブ核から発する登上線維系入力が必要なこと、また、第3章、第4章の結果から、小脳皮質における神経回路の形成・機能障害を有するマウスにおける恐怖条件付け徐脈の異常な動態が判明した。近年 GluD2 の欠失変異を有する家系が報告され、これらの患者では GluD2 変異マウスにおける表現型と同様に小脳性の運動失調が特徴的であるが、これらの病態の詳細な解明や、状況依存的な循環調節における小脳機能の解明においてさらなる研究が必要であると考察している。

本論文は、恐怖条件付け徐脈における小脳機能について、延髄下オリーブ核の薬理的破壊実験や小脳変異マウスを用いた実験により詳細な検討を加えたものであり、独自性が高く、学術的意義も十分に大きなものと評価できる。したがって、本審査委員会は博士(学術)の学位を授与するにふさわしいものと認定する。