

論文審査の結果の要旨

氏名 長谷川 賢卓

神経シナプスでの記憶の書き込み現象として LTP (Long-term potentiation, 長期増強) が知られている。女性ホルモン (Estradiol: E2) は、12 週齢成獣オスラットの海馬 CA1 領域において、弱い神経刺激により誘導される弱い LTP (weak-LTP) を増強することで、完全な LTP を成立させる(この増強により成立する LTP を E2-LTP と呼ぶ)。本研究では、この過程に関わる信号伝達系を分子論的に明らかにすることを目的とし、候補分子の役割を電気生理学的に調べた。また、女性ホルモンに加え男性ホルモン (Testosterone: T, Dihydrotestosterone: DHT) もオスラット海馬内で合成されていることに着目し、E2-LTP に及ぼす男性ホルモンの急性効果の解析、及びその分子メカニズム解明を目的とした研究を行った。

先行研究により、12 週齢成獣オスラット海馬において女性ホルモンが合成されていること、神経シナプス内にその受容体であるエストロゲン受容体 (Estrogen receptor α : ER α) が存在することが見いだされていた。テタヌス刺激 (tetanic stimulation) や TBS (theta burst stimulation, シータバースト刺激) などの強い神経刺激で LTP (full-LTP) が誘導される際に、E2 を短時間作用させても LTP の大きさは変化しない。一方、単独では完全な LTP を誘導できないような弱い神経刺激 (weak-TBS) を与える前に E2 を作用させると、増強が起こり、完全な LTP が誘導される (E2-LTP)。また、行動学実験により、E2 は急性的に記憶学習を増強することが報告されている。以上の結果は、E2 が弱い LTP を増強させること (E2-LTP) により記憶学習に関与していることを示唆している。しかし、E2-LTP の信号伝達系に関わる分子機構はほとんど分かっていなかった。そこで、本研究では海馬スライスにおける電気生理学的実験により、E2-LTP の信号伝達系を解明することを試みた。このため、以前の研究により LTP に関連することが示されている一連の酵素と受容体を候補とし、その役割をアンタゴニストや阻害剤を用いて解析した。具体的にはアンタゴニストや阻害剤を E2 とともに海馬スライスに 30 分間作用させた後、CA1 領域に weak-TBS を与え LTP を誘導し、阻害効果を見た。その結果、E2-LTP には、(1) E2 受容体 ER α / ER β が関与すること、(2) 蛋白キナーゼである、MAPK (mitogen-activated protein kinase)、PKA (protein kinase A)、PKC (protein kinase C)、CaMKII (Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II) が関与すること、(3) NMDA 型グルタミン酸受容体のサブユニット NR2B を含む NMDA 受容体に関与することが明らかになった。このことから、E2-LTP 成立における信号伝達系として、E2 \rightarrow ER α / ER β \rightarrow

MAPK、PKA、PKC の活性化 → NMDA 受容体の活性化 → 後シナプス内への Ca^{2+} 流入量の増加 → CaMKII 活性化 → E2-LTP 成立の流れが示唆された。

12 週齢成獣オスラット海馬内において女性ホルモンに加え男性ホルモンも合成されていること、その受容体であるアンドロゲン受容体 (Androgen receptor: AR) が錐体細胞に存在することが知られていた。そこで本研究において、女性ホルモンと男性ホルモンの相互作用およびその分子機構について調べた。まず、12 週齢オスラット海馬スライスに、女性ホルモン E2 とともに男性ホルモン (T もしくは E2) を、共に 10 nM の濃度で 30 分間作用させると E2-LTP の成立が阻害されることを見いだした。DHT の濃度が相対的に低い場合 (例: 10 nM E2 と 3 nM DHT) においては、E2-LTP は阻害されないことから、男性ホルモンと女性ホルモンは拮抗的に働いていることが示唆された。T, DHT を単独で作用させた場合には、weak-LTP への効果は観測されなかった。次に、DHT の E2-LTP 成立阻害効果の信号伝達系を解明するために、AR アンタゴニストや脱リン酸化酵素 Calcineurin の阻害剤の効果を調べた。その結果、AR と Calcineurin が DHT の E2-LTP 成立阻害効果に関与することが明らかとなった。以前の研究において Calcineurin が NMDA 受容体の活性化を阻害することが知られているので、以上の結果は、DHT の E2-LTP 抑制効果の信号伝達系として、 $\text{DHT} \rightarrow \text{AR} \rightarrow \text{Calcineurin} \rightarrow \text{NMDA}$ 受容体の活性化阻害 → E2-LTP 成立阻害の流れを示唆するものである。

以上のように本研究では、海馬において、女性ホルモン E2 の急性効果により E2-LTP が成立する際の信号伝達系を明らかにした。また、男性ホルモンが E2-LTP を阻害することを示し、この阻害に関わる信号伝達系を明らかにした。今回の研究で得られた知見は、女性ホルモンによる記憶増強の分子メカニズムを理解する上で重要な貢献をなすものである。また、海馬内で見いだされた男性ホルモンと女性ホルモンの拮抗作用とその分子機構は、記憶学習の新たな調節機構を示唆する重要な発見である。

この論文は、北條泰嗣氏、小島大樹氏、池田宗樹氏、堀田佳佑氏、佐藤怜以氏、大石悠貴氏、吉屋美雪氏、Bon-chu Chung 氏、山崎岳氏、川戸佳教授との共同研究であるが、論文提出者が主体となって研究を行ったもので、提出者の寄与が十分であると認められる。従って審査員一同は論文提出者に博士 (理学) の学位を授与出来ると判断する。