

博士論文要旨

海馬歯状回顆粒細胞における興奮性シナプス伝達のセロトニン性調節

広島大学大学院総合科学研究科

野崎 香菜子

海馬は空間認知機能や記憶、そして学習などに関与する重要な脳部位として知られている。海馬の主要な神経回路は三シナプス回路と呼ばれる興奮性のシナプス伝達で構成されており、中でも、嗅内皮質から送られる知覚情報を海馬において最も初期に受け取るのが歯状回の顆粒細胞である。歯状回の主要細胞である顆粒細胞は嗅内皮質から伸長する 2 種の貫通線維より送られる入力に加えて、歯状回内部の苔状細胞神経線維からも興奮性入力を受けている。また、顆粒細胞は歯状回の抑制性介在ニューロンからも GABA 作動性入力を受けており、適度な興奮性を保っている。さらに、歯状回領域へは海馬外からも多くの神経支配がなされ、これによる調節も受けている。このような調節を担う神経修飾物質のひとつが縫線核の神経細胞が分泌するセロトニン (5-hydroxytryptamine: 5-HT) である。

歯状回において、5-HT 作動性神経線維は抑制性介在ニューロンに対して優先的に投射していることが報告されている。そのため、5-HT は抑制性介在ニューロンの活動を調節することで、間接的に顆粒細胞の興奮性へ影響を与えられと考えられてきた。一方で、5-HT による抑制性介在ニューロンを介さない顆粒細胞のシナプス伝達に対する作用についてはほとんど報告されておらず、明確な知見は得られていない。そこで本研究では、電気生理学的手法を用いて、歯状回顆粒細胞の興奮性シナプス伝達に対する 5-HT の作用機構を解明することを目的とした。

本研究では、ラットの急性海馬スライスを作製し、顆粒細胞の単一細胞記録を行うことで、5-HT 作用の検討を行った。本研究では、GABA_A 受容体アンタゴニストである picrotoxin を添加することで抑制性介在ニューロン活動の影響を除いた条件下で、3 種類の興奮性神経線維（外側貫通線維: LPP、内側貫通線維: MPP、苔状細胞神経線維: MCF）刺激を行い、誘発

される興奮性シナプス後電位 (excitatory postsynaptic potential: EPSP) に対する 5-HT の作用について検討した。その結果、5-HT が顆粒細胞に局在する 5-HT_{1A} 受容体の活性化を介して K⁺コンダクタンスを増加させることで、シナプス位置に依存した短絡効果により EPSP 振幅の低下と持続時間の短縮をもたらすことを確認した。さらに、LPP 由来 EPSP においては 5-HT₂ 受容体の活性化に依存した抑制成分も検出された。この 5-HT₂ 受容体を介した作用は EPSP の発生確率の低下やペアパルス比の増加を誘導することから、シナプス前終末において伝達物質放出の抑制を誘導していると考えられた。

先行研究では、歯状回における 5-HT₂ 受容体は貫通線維の投射部位では比較的発現が弱いことが示されている。そのため、LPP の神経線維終末における伝達物質の放出抑制は、シナプス前終末以外に局在する 5-HT₂ 受容体の活性化によりもたらされた可能性が考えられる。そこで次に、5-HT₂ 受容体の活性化がどのような経路で LPP の神経終末における抑制作用をもたらすかについて検討を行った。

脳内に存在するアストロサイトは、細胞内 Ca²⁺濃度上昇によりグリオトランスミッターのひとつである ATP を放出することで、シナプス伝達の効率を調節する役割も担っている。また、細胞外に放出された ATP の一部は、細胞外へ放出されてすぐにエクトヌクレオチダーゼ活性によりアデノシンへと変換され、シナプス前終末におけるアデノシン A1 受容体を活性化することでシナプス伝達を抑制することが知られている。そこで、5-HT による LPP の抑制作用に A1 受容体を介した経路が関与するか検討を行った。その結果、5-HT 添加による EPSP の抑制作用は、A1 受容体アンタゴニストである DPCPX を加えることで強く抑制されることが認められた。また、5-HT₂ 受容体アンタゴニストである ritanserin を予め添加した条件下では、この DPCPX による遮断効果は消失した。以上の結果から、5-HT がもたらす LPP 神経終末における伝達物質の放出抑制には 5-HT₂ 受容体の活性化を起点とした A1 受容体の関与があると考えられる。すなわち、LPP 神経終末における抑制作用は、アストロサイトに発現する 5-HT₂ 受容体の活性化により放出された ATP に由来するアデノシンが

LPP 神経終末の A1 受容体を活性化することでもたらされている可能性が示唆された。

生体内において、細胞外の 5-HT 濃度上昇は 5-HT 作動性神経線維の分布に依存して局所的に生じていると考えられる。そこで、局所的な 5-HT 濃度の上昇によっても 5-HT による抑制作用が認められるか検討するため、5-HT 放出薬であるフェンフルラミン (FFA) の添加が顆粒細胞に対してもたらす作用について調べた。その結果、FFA の添加は LPP 由来 EPSP の振幅を顕著に抑制することが明らかになった。この作用は MPP 由来の EPSP では認められず、さらに 5-HT₂ 受容体の活性化に依存していることが明らかになった。一方、顆粒細胞の 5-HT_{1A} 受容体の活性化による入力抵抗の低下については、これが認められない細胞も観察され、入力抵抗の減少が見られた細胞においてもその程度は微弱であり、EPSP における減衰過程の短縮もほとんど認められなかった。このことから、FFA 添加によっては 5-HT_{1A} 受容体の活性化がほとんど生じていないと考えられた。以上の結果より、内因性の 5-HT は 5-HT_{1A} 受容体よりもむしろ 5-HT₂ 受容体を優先的に活性化することが示唆された。

さらに、歯状回の顆粒細胞に与える FFA の抑制作用について、海馬の背側、腹側それぞれにおいて解析を行ったところ、FFA による抑制作用は腹側海馬においてのみ認められることが明らかになった。一方で、5-HT を添加した際には、両側間における作用に差異はなかったことから、5-HT に対する反応性は背側と腹側で違いはないことが示唆された。すなわち、FFA による抑制作用が両側間で異なったことについては、5-HT 作動性神経線維の分布が異なることがその要因であると考えられる。

本研究の結果は、5-HT による歯状回顆粒細胞の興奮性調節における新たな作用経路を提案するものである。今後、顆粒細胞の周囲に存在する抑制性介在ニューロンやグリア細胞が成している local な情報伝達経路をより明確にし、それに対する 5-HT の作用を明らかにしていくことで、海馬の機能形成における 5-HT の作用を解明することにつながるものと考えられる。