

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（歯学）	氏名	秋友 達哉
学位授与の条件	学位規則第4条第①・2項該当		
論文題目 Role of amygdalar mGluR7 in acquisition and extinction of conditioned taste aversion (味覚嫌悪学習の獲得および消去における扁桃体の mGluR7 の役割)			
論文審査担当者			
主査	教授	寺山 隆司	印
審査委員	教授	吉子 裕二	
審査委員	教授	吾郷 由希夫	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>扁桃体は情動学習の獲得・消去過程に関与しており，味覚嫌悪学習(CTA)においても重要な役割を果たす。CTA は実験的には，本来甘味を好む習性をもつマウスに対して甘味物質であるサッカリン溶液(Sac)の摂取時に内臓不快感を催す塩化リチウムを腹腔内投与することで，マウスは Sac と内臓不快感を関連づけて記憶し，その後，Sac に対し嫌悪感を抱くようになる。味覚による条件刺激と内臓感覚による無条件刺激の双方の情報を受け取り活動するニューロンが可塑的变化を基に，CTA を形成させることが推測されている。最近の研究で，扁桃体基底外側核(BLA)のニューロンの一部における情報の統合が CTA 獲得に必要なことが示されたが，情報を統合するニューロンとその下流のニューロンがどのような機能変化を起こし，下流のニューロンの活性化パターンを変化させ，CTA を可能にするかは不明である。一方，CTA 獲得後に Sac を継続的に与えていくと，Sac に対して再び嗜好性を示すようになる。これを消去記憶の獲得といい，Sac が安全であることを改めて経験し記憶する学習機能と考えられている。</p> <p>代謝型グルタミン酸受容体 7 型(mGluR7)は脳内に広く分布している G タンパク質共役型受容体であり，近年，自閉症や神経発達障害と関連することが報告されている。mGluR7 欠損マウスにおいて CTA 獲得機能の低下が報告されているが，獲得時における扁桃体内の各種領域のニューロンでの mGluR7 の発現量や細胞内局在の変化や，獲得後における mGluR7 の役割およびその脳内変化については不明な点が多い。本研究では，CTA の獲得・消去過程における扁桃体内の各種領域 [BLA, 中心核(CeA), 皮質核(CoA), 内側核(MeA)] のニューロンにおける抗 mGluR7 抗体反応物質の発現量や細胞内局在の変化を解析し，それらの過程における mGluR7 の役割を明らかにすることを目的とした。</p>			

方法として、第一に二瓶選択法により Aversion Index (AI) : (蒸留水飲水量) / (蒸留水飲水量 + Sac 飲水量) × 100 の測定を行い、CTA 獲得後の C57BL/6N 雄性マウスの Sac に対する嫌悪度の経日的変化を評価した。そして AMN082 (mGluR7 アゴニスト)等を腹腔内投与し、AI に与える影響を精査した。第二に、Western blotting により、未処置群(Control)、CTA 獲得 24 時間後のテスト直後(CTA 獲得確認)、テスト後 1 日・2 日・3 日経過後、および消去記憶獲得後の 6 つの時系列にて、扁桃体の BLA, CeA, CoA, MeA の 4 領域における抗 mGluR7 抗体反応物質の発現量変化を解析した。第三に、免疫組織化学的解析を行い、BLA, CeA, CoA, MeA のニューロンに発現する抗 mGluR7 抗体反応物質の細胞内局在を Control とテスト後 2 日目において比較解析した。

結果として、24 時間の呈示を行う二瓶選択法において、AMN082 を投与することにより消去記憶の獲得が促進された。飲水時間を 30 分に制限し、その飲水前後に AMN082 を投与したところ、二瓶選択の飲水前に AMN082 の投与を行うことで消去記憶の獲得が促進された。一方、二瓶選択の飲水後に AMN082 を投与した場合においては vehicle 投与群と著変なかった。

Western blotting により CTA の獲得・消去過程での扁桃体の抗 mGluR7 抗体反応物質発現量を調べたところ、BLA, CeA, CoA, MeA の 4 領域ともに分子量の異なる 2 つのバンド(約 240kDa バンド・75kDa バンド)が確認された。BLA および CoA では高分子量のバンドがテスト後 1 日目以降に徐々に増加し、テスト後 3 日目をピークに減少傾向にあった。2 つのバンドの総和を経時的に比較した場合においても、テスト後 3 日目に最も発現量が増加していた。CeA および MeA においては明らかな変化はみられなかった。

免疫組織化学染色にて抗 mGluR7 抗体反応物質の細胞内局在を比較すると、BLA において Control では細胞膜辺縁に発現が多い一方、テスト後 2 日目では細胞内オルガネラを含む細胞全体に発現しているニューロンが多くみられ、抗 mGluR7 抗体反応物質の細胞内局在に変化がみられた。

以上の結果から、本論文は mGluR7 の活性化が CTA の消去記憶の獲得を促進することを明らかにした。また、CTA の獲得・消去過程で、BLA のニューロンにおいて抗 mGluR7 抗体反応物質の発現量や細胞内局在に変化がみられたことから、BLA における mGluR7 の活性・発現量・細胞内局在の変化が CTA の獲得および消去記憶の獲得に関与している可能性を示した。本論文は CTA の獲得・消去時の扁桃体ニューロン内の mGluR7 発現の時空間的变化について新しい知見を得ており、十分な科学的価値を示したと考えられる。

よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士(歯学)の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。