

【学位論文審査の要旨】

1 研究の目的

動物は環境から得た情報を脳神経系に記憶として保存しており、記憶形成には脳神経回路の機能的・構造的な変化（神経可塑性）を伴うと考えられている。神経可塑性現象は学習・記憶の細胞レベルにおける形成機構と考えられ、主にマウスやラット、アメフラシなどを利用して研究が行われてきた。シナプス可塑性を知るための実験モデルとして長期増強 [long-term potentiation (LTP)] と長期抑圧 [long-term depression (LTD)] として知られる電気生理学的現象がある。現在では、記憶は LTP や LTD のような細胞機構を介してシナプス強度が調節されることで成立すると考えられている。

遺伝学的手法に優れ、哺乳類と比べ脳神経細胞数が少ないキイロショウジョウバエは、学習行動解析と分子生物学的手法を用いて学習記憶の分子機構を明らかにするための研究に利用されてきた。しかし、ショウジョウバエ脳は極めて小さく電気生理学的手法には向いていないことから、神経可塑性の研究はあまり行われてこなかった。近年、蛍光イメージング技術の発展に伴い、Ca²⁺インジケーターを利用した神経活動測定が可能になった。本研究では、ハエ脳の記憶中枢であるキノコ体における新しい神経可塑性現象の同定とその分子機構の解明を目的とし、遺伝学のおよび生理学的解析を行った。

2 研究の方法と結果

ハエ脳において触覚から入った匂い情報は一次中枢である触覚葉に投射され、次に匂いの二次中枢であるキノコ体へと投射される。触覚葉を電極により電気刺激するとキノコ体の樹状突起（入力）部と軸索（出力）部において Ca²⁺応答が観察される。触覚葉を連続刺激することで、キノコ体の入力部・出力部における Ca²⁺応答が持続的に低下する新規神経可塑性現象を本研究において見出した。Ca²⁺応答低下現象に関与する分子として cAMP シグナル経路に着目して解析を行った。その結果、キノコ体の出力部・入力部ともに、Ca²⁺応答低下の誘導に Ca²⁺/カルモジュリン応答性アデニル酸シクラーゼをコードする *rutabaga* (*rut*) 遺伝子のキノコ体における発現が必要であることが示された。さらに、触覚葉の連続刺激中に cAMP 合成を上昇させると Ca²⁺応答低下が昂進すること、連続刺激を行わずに cAMP 合成のみを上昇させると Ca²⁺応答が逆に促進することが出力部において観察された。次に、蛍光 cAMP プローブを用いてキノコ体入力部における cAMP 応答を観察したところ、触覚葉の連続刺激中に *Rut* を介した cAMP 合成が生じていた。触覚葉 - キノコ体間の神経伝達はニコチン性アセチルコリン受容体を介していることが知られている。ニコチンを添加することでキノコ体入力部を直接刺激した結果、1) Ca²⁺流入と cAMP 合成が同時に起こること、2) cAMP 合成が *Rut* を介していること、3) cAMP 合成が Ca²⁺流入依存的事であることを見出した。

以上の結果より、触覚葉の連続刺激がキノコ体入力部において Ca²⁺流入依存的な cAMP 合成を誘導することにより、触覚葉 - キノコ体間の神経伝達効率を可塑的に低下させるこ

と、少なくとも出力部における Ca^{2+} 応答低下には Ca^{2+} と cAMP と両方の上昇が必要であることが示唆された。

3 審査の結果

ショウジョウバエ脳の神経可塑性に関しては、外科的に摘出した脳を培養しながら神経活動を記録する「摘出脳イメージング」を利用して、哺乳類で報告されている LTP と似た神経可塑性現象[long-term enhancement (LTP)]が 2013 年に初めて報告された。しかし、神経細胞間の情報伝達効率が長期に渡って低下する LTD のような現象は見つかっていなかった。本研究では、摘出脳イメージング技術を利用し、特定条件の連続電気刺激を受けた後にキノコ体ニューロンの Ca^{2+} 応答が長期間低下する現象を世界に先駆けて見出したことは高く評価できる。さらに、 Ca^{2+} プローブのみならず、cAMP FRET プローブを用いて cAMP 反応をダイレクトに測定してキノコ体入力部および出力部の Ca^{2+} 応答の低下の分子メカニズムを明らかにした点は、イメージング技術のメリットと、ショウジョウバエ遺伝学の利便性を十分に生かしている。実験計画は慎重によく考えられており、また、結果から導かれる結論も明確である。また、本研究の内容は国際誌 *Journal of Physiology* にすでに発表している。よって、本研究は本学の博士（理学）の学位に十分値するものと判断した。

4 試験及び試問の結果

本学の学位規定および、生物科学専攻の申し合わせに従って試験および試問を行った。公開の席上で論文内容を発表し、生命科学専攻教員による質疑応答をもって試験にあてた。また、論文審査委員が本論文および関連分野について試問を行った。その結果、専門分野、関連分野および外国語について十分な学力があることを認め、合格と判定した。