

## 論文内容の要旨

申請者氏名 田 村 英 紀

長期増強 (LTP) は海馬依存的な記憶の獲得に、特に重要であると示唆されてきた。細胞外プロテアーゼによるプロテオリシスは、シナプス間の接着を修飾、つまりシナプスの形態を変化させることによって LTP に寄与すると考えられている。本研究では細胞外セリンプロテアーゼニューロプシン (NP) がシナプスの増強および海馬依存的な記憶形成の両方に重要な役割を果たしていることを明らかとした。

NP ノックアウトマウスは、モリス水迷路および Y 迷路における空間認知記憶の障害および、単一テタヌス刺激によって誘導される LTP 早期過程が阻害されていた。また、海馬で LTP を誘導したところ、NP は高頻度刺激後早期に活性化し、この活性化は、NMDA 受容体阻害剤で抑制された。NP に対する特異的阻害剤およびモノクローナル中和抗体を側脳室内に投与し、NP の活性を抑制すると、LTP の早期過程は、完全に阻害された。興味深いことに、テタヌス刺激なしに、リコンビナント (r-) NP を海馬内に単独投与することで、長期持続的な増強および抑圧を、その濃度依存的に誘導した。この r-NP による増強は、シーターバースト刺激による LTP とお互い閉塞し合った。このことは、2 つの可塑性が共通のシグナル経路を介していることを示すものである。r-NP による増強は、電気刺激による LTP 時と、同じ AMPA 受容体 GluR1 サブユニットのサイトで、リン酸化を増大させた。一方、r-NP による抑圧は、電気刺激による長期抑圧時と、同様のサイトで、脱リン酸化を誘導した。以上のことから、*in vivo* で NP は、LTP の成立に必須であり、また、記憶獲得に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

次に、扁桃体でのシナプス可塑性における NP の役割を検討した。野生型マウスの外側嗅内皮質 (LEC) に、高頻度刺激を与えたところ、扁桃体基底外側核 (BLA) で、安定な LTP が *in vivo* で誘導された。しかしながら、NP ノックアウトマウスの LEC-BLA 経路において、通常の興奮性シナプス伝達は、正常であったにも関わらず、LTP は障害された。対照的に、NP ノックアウトマウスの BLA に、高頻度刺激を与えたところ、LEC で野生型マウスとほぼ同程度の LTP が誘導された。このように、*in vivo* で NP は、皮質 - 扁桃体経路の LTP に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

## 論文審査結果の要旨

申請者氏名 田 村 英 紀

ニューロプシンはキンドリング、LTP などの神経可塑性モデル動物において海馬での遺伝子発現が活動依存的に増強することから神経可塑性との関連が考えられてきた。また、けいれん閾値以下の電気刺激を毎日与えることにより作成されるキンドリング動物では、ニューロプシンに対する抗体や中和抗体を脳室内投与することにより、その進行をブロックすることができた。これらのことからニューロプシンはキンドリング形成過程でおこる発芽や、新規回路形成にたいし関連していることが考えられた。そこで田村はニューロプシントタンパク質およびそのインヒビターをマウス海馬へ注入して、生理学的条件においてニューロプシンが関係するシナプス伝達の変化が起こるかどうかもまたその変化がブロックされるかどうかを調べた。その結果、要旨にあるようにニューロプシンがシナプス可塑性にきわめて重要であることを明確に示した。さらに、ニューロプシンを添加して起こる LTP が電気刺激によって誘導できる従来型の LTP が同じメカニズムによるかどうかを調べるため両者の閉塞実験を行なった。その結果、電気刺激誘導型の LTP とニューロプシン誘導型ともに閉塞するので、両者は同じ仕組みによるものと考えられた。

以上のように、本論文はマウスの学習機能にセリンプロテアーゼ・ニューロプシンが深く関わっていることを世界で初めて発見し、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（バイオサイエンス）の学位論文として価値あるものと認めた。