

## 論文審査の要旨

報告番号	総研第 615 号	学位申請者	山内 優
審査委員	主査	武田 泰生	学位 博士 (医学) 歯学・学術)
	副査	奥野 浩行	副査 田川 義晃
	副査	桑木 共之	副査 浅川 明弘

**The pivotal role of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide for lactate production and secretion in astrocytes during fear memory**

(恐怖記憶時のアストロサイトにおける乳酸の産生と分泌に対する下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ポリペプチドの重要な役割)

下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ポリペプチド (PACAP) と恐怖記憶の関係についてこれまでに数多くの研究が報告されているが、PACAP の恐怖記憶への関与のメカニズムは不明である。一方、アストロサイトからの乳酸分泌は、薬物依存、慢性疼痛あるいは恐怖記憶など、中枢神経系における多くの神経可塑性に寄与している事が報告されている。本研究では、恐怖記憶の獲得あるいは想起において、アストロサイトの乳酸産生・分泌に PACAP シグナルが関与している可能性を明らかにすることを目的とした。

その結果、本研究で以下の知見が明らかにされた。

- 1) 培養アストロサイトに PACAP を曝露した結果、PACAP は、0.3pM から用量依存的にグリコーゲン分解を増強した。一方、PACAP と共にグリコーゲン分解酵素の阻害薬である 1,4-dideoxy-1,4-imino-d-arabinitol (DAB) を曝露するとグリコーゲン分解は抑制された。さらに、グリコーゲン代謝産物と考えられる乳酸濃度は、アストロサイトの培養上清中において PACAP により用量依存的に増加した。
- 2) ラット海馬の細胞外乳酸濃度を in vivo マイクロダイアリシスで評価したところ、PACAP を脳室内投与すると、海馬の細胞外乳酸濃度が持続的に増加し、外来性の PACAP はアストロサイトの乳酸分泌を促進することが確認された。
- 3) 受動回避学習試験を行うと、PACAP (-/-) マウスあるいは PACAP のアンタゴニストである PACAP [6-38] を投与したマウスでは、記憶の獲得から 7 日後の記憶の想起が障害されたことから、PACAP は恐怖記憶の形成に重要であることが推察された。次に、恐怖記憶の獲得と想起後、PACAP (+/+) および PACAP (-/-) マウスの内側前頭前皮質、扁桃体、海馬を採取し、グリコーゲンおよび乳酸量を測定した。その結果、グリコーゲン量には変化がなかったが、恐怖記憶の獲得時には海馬において、また想起時には扁桃体と海馬において、PACAP (+/+) マウスでは乳酸が有意に増加したが、PACAP (-/-) マウスでは変わらなかった。
- 4) マウス海馬の細胞外乳酸濃度を in vivo マイクロダイアリシスで評価したところ、PACAP (+/+) マウスでは記憶の獲得に伴って海馬の細胞外乳酸濃度が上昇したが、PACAP (-/-) マウスでは変わらなかった。
- 5) 海馬あるいは扁桃体標本を PAC1 のアンチセンスプローブおよび抗 GFAP 抗体あるいは glutamine synthetase のアンチセンスプローブで 2 重染色し、両部位のアストロサイトに PAC1 が発現していることを確認した。

結論として、学位申請者は恐怖記憶において、PACAP がアストロサイトからの乳酸分泌を誘導することを明らかにした。そしてアストロサイトにおける PACAP-PAC1 シグナルが、恐怖記憶の獲得時には海馬において、また想起時には扁桃体と海馬において、乳酸代謝に必須の役割を果たしていると推測している。

よって本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。