

1-3. 脳内海馬での情報処理変化の検索および脳波の周波数解析

研究協力者：笛田由紀子（産業医科大学産業保健学部第1生体情報学）

①課題研究全般とペアパルス抑制・脳波を担当

夏目季代久（九州工業大学大学院生命体工学）

② LTP を担当

福田孝一（九州大学大学院医学研究院神経形態学）

③形態学的検索を担当

1. 研究要旨

嗅覚情報は脳辺縁系と皮質へと伝わる。内嗅野皮質から情報をうける海馬は脳辺縁系の一部でもあり、情動・記憶・学習という脳の高次機能に深く関わっている。我々研究グループは、有機溶剤が海馬神経細胞群の入出力回路の特性を変えることを報告した（Fueta et al, J Occup Health, 2000）。本態性多種化学物質過敏状態のモデル作成にあたり、本課題では、低濃度ホルムアルデヒドの長期曝露が、海馬での神経情報処理機能へどのような影響を与うるのかを検討した。出力特性に必須の反回抑制系と、入力特性としてシナプス可塑性の変化を、2000ppb 曝露群で調べ対照群と比較した。さらに、免疫組織学的にも検討し、機能と形態の両面から、モデルのバイオマーカーを検討した。その結果、海馬への入力部位である歯状回での抑制の減弱が、2000ppb 曝露群と 400ppb 曝露群のうちくしゃみを多くをすするマウスで観察された。海馬の CA1 での長期増強の低下は、2000ppb 曝露群で観察された。形態学的には顕著な変化は見られなかった。このことは、機能的変化が可逆的であることを示唆する。2000ppb 曝露群の脳皮質運動野、運動感覚野から記録した脳波の周波数解析からは、曝露による周波数分布の変化はみられなかった。

今回の結果から、2000ppb 濃度のホルムアルデヒド曝露により、海馬での神経情報処理において、抑制の減弱とシナプス可塑性の低下の傾向を得た。再実験による確認と、関連受容体の検討、2000ppb 未満の低濃度での検討、くしゃみとの連関等さらに検討が必要である。また、今回の結果が中毒学的反応にとどまるのか、本態性多種化学物質過敏状態のモデル作成のマーカーとなりうるのか、曝露条件と曝露物質の検討を必要とする。

2. 本研究課題についての緒言と研究目的

2-1) なぜ海馬を調べるのか

嗅覚は感覚のひとつであり嗅覚中枢で知覚される。嗅覚中枢とは、簡単には、嗅球からの神経入力を直接受ける皮質の部位として定義される。解剖学的には前嗅核、前梨状皮質、嗅結節、扁桃体、内嗅野皮質の5つの部位からなっている。後者4つの部位からの嗅覚情報は視床を経由して、前頭葉へと伝わる。前頭葉のこの領域は、嗅覚の認知や識別に関係していると考えられている。一方、嗅覚情報は、扁桃体から視床下部へ、また、内嗅野皮質から海馬へと伝達される。扁桃体、視床下部および海馬は、辺縁系の一部で、パペッツが提唱する情動回路を形成する重要な領域で、情動の表出と形成に関わっているといわれている。本態性多種化学物質過敏状態は、問診によれば情動的側面を修飾しているため、辺縁系の神経情報処理の変化を調べることが、中枢神経系への影響を確認するうえで重要である。そのためには、まず、海馬が最適と考える。なぜならば、第1に、海馬がてんかん様電位に関して閾値が低く、ヒトてんかんでも古来注目されてきた部位であるからである。本態性多種化学物質過敏状態と診断された患者でも、症状のひとつにてんかんが記載されることがある。また、本態性多種化学物質過敏状態のメカニズムとしてキンドリング仮説が提唱されているが、キンドリング現象は、海馬で多く報告されている実験てんかんのモデルである。てんかんのような神経細胞群の同期した過剰興奮状態は、興奮と抑制のアンバランスによるといわれ、とくに、抑制系の減弱は過剰興奮をひきおこす鍵となりうる。第2に、海馬は、記憶や学習の中枢と考えられている。これら高次機能には、神経細胞の特徴であるシナプス可塑性が重要な役割をしている。本態性多種化学物質過敏状態は臭いの記憶がなんらかの引き金になっているのではないだろうか。第3に、我々の今までの実験から、1-プロモプロパン、トルエン、ブタノール等の有機溶剤の吸入曝露において、海馬の入出力回路が変化しやすいという結果を得ている。したがって、今回のホルムアルデヒドについても海馬が脆弱性を示す事が予測される。最後に、海馬は脳内でも解剖学的情報が多い部位であり、かつ、*in vitro* スライス標本によく用いられるため、機能についての多くの電気生理学的実験結果が蓄積されてきた部位でもある。それらの実験結果から得られた情報は、ホルムアルデヒド曝露マウスから得られた実験結果の生理学的意義を考察するうえで大いに役に立つ。本課題実験では、神経細胞の電気生理学のみならず神経形態学も検討する。以上のような理由で、われわれ研究班は脳の部位のなかでも海馬と海馬への入力部位である歯状回を実験のターゲットと決めた。

2-2) 海馬体の細胞構築と信号の流れ

ラット、マウスなどの齧歯類では、海馬体は側脳室の湾曲に沿って脳の正中近傍から外尾方へ、ついで外腹方へのびる。正中近傍を背側海馬体、外腹側へのびた部分を腹側海馬体という。ヒトやサルなど霊長類では側脳室下角が発達しており腹側海馬体が背側海馬体より大きい。図1は灌流固定したラット脳の海馬 (CA1, CA3) と歯状回 (DG) の横断面である。錐体細胞層 (CA1 の sp) と顆粒細胞層 (DG の g) が2つのU字に配置している。神経情報は、3つの主な興奮性シナプスを経由して、海馬から皮質等へ伝わる (図2)。内嗅野の神経細胞の軸索である貫通線維 (perforant path, pp)の一部は歯状回の顆粒細胞にシナプスを作り、この顆粒細胞の軸索である苔状線維 (mossy fiber, mf) は、CA3、CA4 野の錐体細胞にシナプス接合する。CA3、CA4 野の錐体細胞軸索側枝 (Schaffer の側枝, Sch) は、CA1、CA2 野樹状突起へ神経連絡をしている。CA1 野の錐体細胞は軸索を皮質へ投射している。CA1 錐体細胞や歯状回顆粒細胞は、GABA 作動性ニューロンによって反回抑制を受けている。

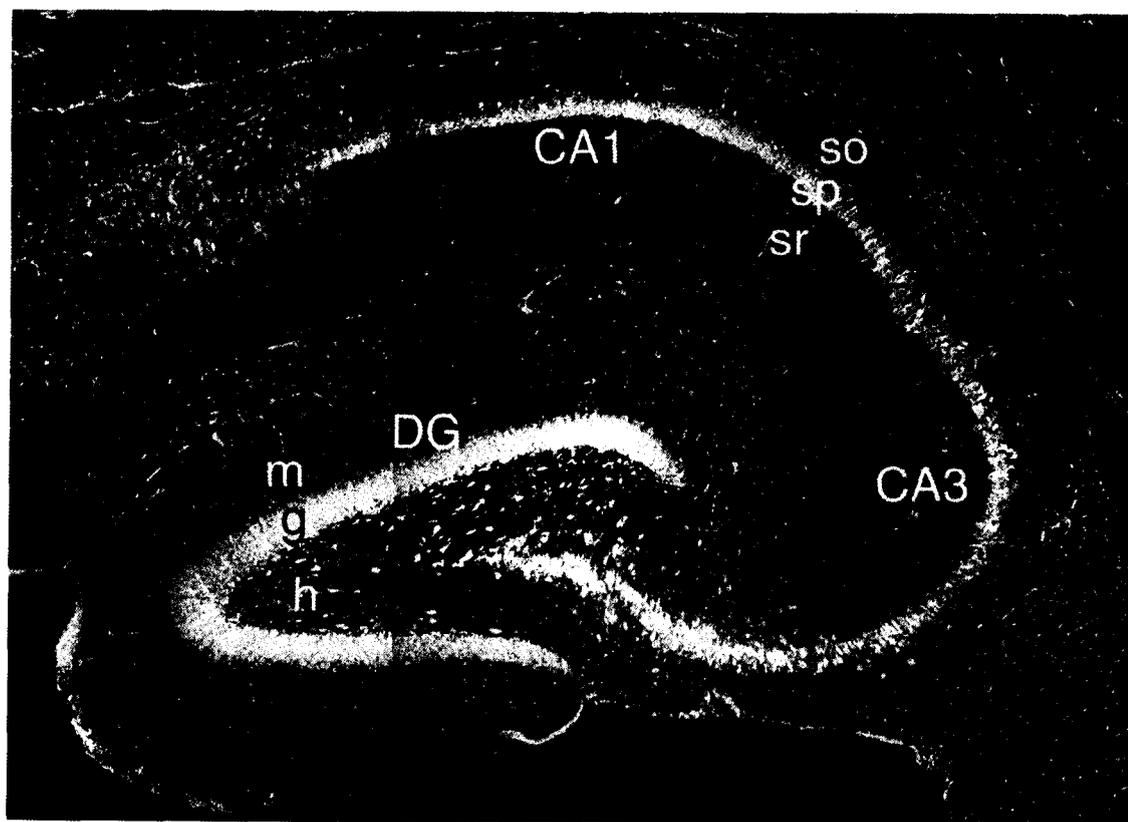


図1 ラット海馬体 (海馬と歯状回) の冠状断面組織図。Propidium iodide (PI) を用いて核染色をしたもの。細胞層が2つのU字に認められる。

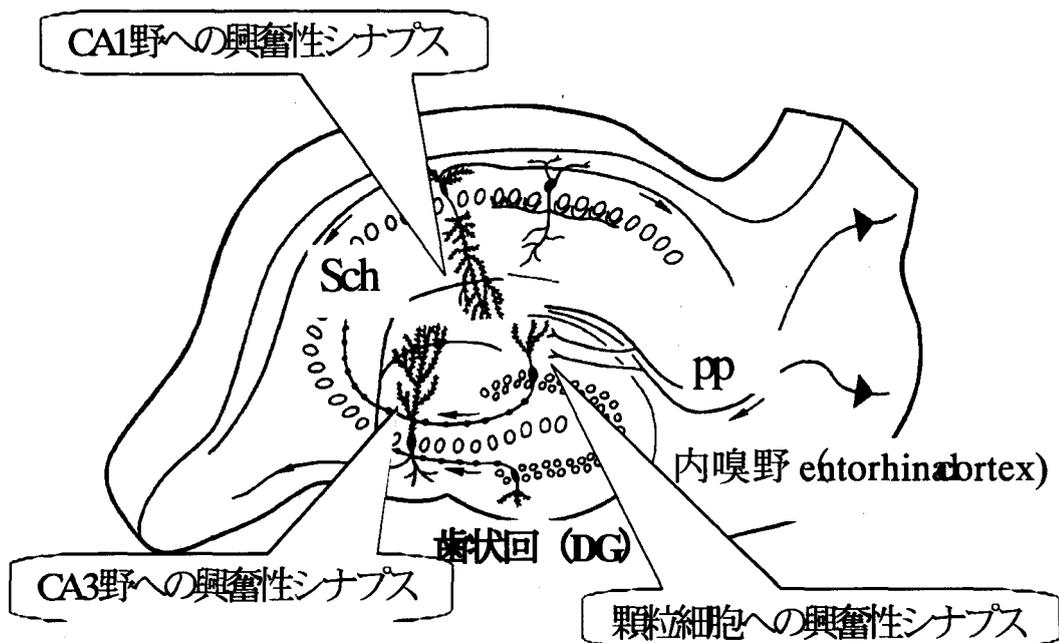


図2 ラット海馬の横断面模式図。3つの主要な興奮性のシナプスが海馬内の情報の流れをになっている。歯状回への入力シナプスは内嗅野錐体細胞の軸索(貫通線維、perforant path, pp) 終末によってつくられる。歯状回情報は、苔状線維によってCA1につたわり、CA3の情報は、シャーフアー側枝によってCA1へと伝わる。

2-3) 反回抑制の意義-過剰興奮の鍵を握る

ガンマアミノ酪酸(gamma amino butyric acid, 以下 GABA と略す)は、グルタミン酸から合成されるアミノ酸で、脳内に広く分布する抑制性シナプス伝達物質である。抑制性シナプス伝達物質といわれる所以は、GABA 作動性ニューロン神経軸索終末から放出された GABA が細胞体後シナプス膜の GABA 受容体に作用すると、膜電位が過分極し(活動電位の閾値から遠くなる)、後シナプスの細胞は興奮しにくく(活動電位が生じにくくなる)なるという電気生理学的特徴による。神経細胞は、興奮して(活動電位が生じて)はじめて神経情報を他の神経細胞に伝えることができる。では、神経細胞の興奮を効率良く制御する GABA 性シナプスは錐体細胞や顆粒細胞のどこにあるか。それは活動電位が発生する細胞体または軸索の付け根(丘)という部位である。このタイプの GABA 作動性ニューロンは、籠細胞ともいわれ、パルプアルブミン(PV と略す事が多い)を抗原として免疫染色される。図3はパルプアルブミン陽性の GABA ニューロンの分布を示す。CA1野、歯状回では、白くみえる(免疫染色された)GABA ニューロンの細胞体が、錐体細胞層や顆粒細胞層に集中していることがわかる。