

ラット島皮質への臭化エチジウム投与後における時間依存的な学習阻害効果

濱田 理志

【背景と目的】

近年、さまざまな脳機能には、細胞数の 10 %程度であるニューロンと残りの 90%を占めるグリア細胞の機能連関が介在すると示唆されている。脳内のグリア細胞にはアストロサイト・ミクログリア・オリゴデンロサイトの三種類がある。アストロサイトはシナプス伝達を修飾し、血中液性因子からの脳内環境を保護する血液脳関門を形成する。また、ミクログリアは損傷したニューロン・シナプスの除去や炎症反応などに関わる。オリゴデンロサイトはミエリン(髓鞘)によって神経軸索を髓鞘化して活動電位の軸索伝導の速度を調節し、神経回路網での情報処理や同期的活動を促す。さらに、多様な脳領域でのニューロン-グリア間での相互作用がうつや認知症などの心身・精神疾患の一因として注目されているが、記憶や学習の神経機構におけるニューロン-グリア機能連関による神経活動調節の役割については未解明な点が多い。

味覚嫌悪学習は新奇な味覚刺激と内臓不快感との連合によって、その味覚刺激の摂取を避けるようになる学習であり、中枢味覚伝導路でのさまざまな脳部位の機能により形成される。一部の先行研究は、一次味覚野が存在する島皮質のニューロンを興奮性神経毒にて局所破壊すると味覚嫌悪学習が阻害されると示している。しかしながら、同様の島皮質ニューロンの破壊が味覚嫌悪学習を阻害しないとの報告もあり、島皮質の必要性については一貫した結論は得られていない。島皮質は、味覚以外にも嗅覚や痛覚、内臓感覚・内受容感覚などの多種の感觉刺激の情報処理を担うとともに、不安や恐怖、社会的な共感などの情動にも関与している。電気ショック(無条件刺激)による体性的な痛覚情報と周囲環境などの文脈刺激(条件刺激)との連合による恐怖学習の一つである受動的回避学習においても、島皮質が注目され、興奮性神経毒による局所破壊の効果も調べられてきたが、味覚嫌悪学習と同様に受動的回避学習での島皮質の関与については一貫した結論は得られていない。

これらの学習での島皮質の関与について結果の一致がみられないのは、その破壊実験において、ニューロン破壊効果のみが注目されてきたためと考えられる。ニューロン損傷の程度や範囲が研究間で異なるとともに、ニューロン-グリア機能連関やグリア機能の障害レベルとその回復の時間的過程にも研究間で相違があると考えられる。島皮質の損傷後には、集積してきたミクログリアから放出された炎症関連因子によるニューロン機能の修飾、ミエリンの脱落(脱髓)や再髓鞘化、血液脳関門の損傷と修復などのニューロン-グリア構造やその機能の損傷と、その時間的変動がありえる。つまり、グリア構造・機能の変容とニューロン-グリア相互作用の時間的変化の視点も含めて調べるべきである。そこで、ニューロンもグリアも細胞破壊する臭化エチジウム(EtBr)のラット島皮質への局所投与によって同皮質のニューロンやグリアを局所破壊し、その破壊・近傍領域での局所組織構造の変化やその時間的変動と、味覚嫌悪学習と受動的回避学習の形成と保持という学習過程への効果との関連性を調べることを本研究の目的とした。

【実験 1】

ラットの島皮質への EtBr の局所投与がさまざまなグリアやニューロンの細胞数、そして皮質内微細構造にどのような影響を及ぼすのかを調べるために、同一動物の大脳半球一側の島皮質には生理食塩水(対照側)を、対側半球の島皮質(EtBr 投与側)には EtBr をそれぞれ微量投与し、ニューロン・グリアのそれぞれの細胞のマーカー蛋白の免疫組織化学的染色を用いて島皮質両側の組織学的構造を比較した。投与 1 週間後において、対照側と比較すると、EtBr 投与側島皮質では、EtBr 投与付近において局所的

にニューロンの細胞数が減少し、アストロサイトのマーカーシグナルも減少し、脱髓もみられた。アストロサイトは、細胞破壊領域を囲むように円環状に凝集し、島皮質全体ではマーカーシグナルは増加した。ミクログリアは細胞数の増加とともに細胞破壊領域へと凝集していた。一方、EtBr 投与 3 週間後では、EtBr 側の島皮質において、1 週間後にみられたニューロン数の減少はみられず、1 週間後ではみられたミクログリア数の増大とその凝集構造、およびアストロサイト凝集構造は低減しており、対照側の皮質構造と類似した状態であり、組織破壊後の構造異常は少なくなっていた。1 週間後でみられたミエリンの脱落(脱髓)に関しても、3 週間後では対照側皮質でのミエリンレベルに近接していた。

【実験 2】

同一ラット群において、島皮質への EtBr 投与の 1 週間後に味覚嫌悪学習を、3 週間後に受動的回避学習を調べた。味覚嫌悪学習では、両側島皮質への生理食塩水の投与群(対照群)と EtBr 投与群では、両群とも条件刺激(サッカリン溶液)の摂取量が同程度に著しく低下し、味覚嫌悪が形成された。一方、受動的回避学習における条件づけ翌日のテストでは、電気ショックと連合された暗箱への入室に要する時間(ステップスルーパス)は両群ともに有意に増加したが、2 回目以降のテストでは対照群と比較して EtBr 投与群ではステップスルーパス時間が有意に短くなり、受動的回避学習の保持に障害がみられた。

【実験 3】

実験 2 では EtBr 投与の 3 週間後での受動的回避学習に保持障害がみられたが、それが EtBr 投与からの時間経過(3 週間)に依存した効果であるのか、受動的回避学習だけが EtBr 誘導性破壊によって影響されるのか、さらに、その両方の効果に基づくのかは不明であった。そこで、実験 2 とは学習課題のテスト順を逆転させ、同一のラット群において EtBr 投与の 1 週間後に受動的回避学習、3 週間後に味覚嫌悪学習を行った。その結果、受動的回避学習および味覚嫌悪学習の双方での阻害はみられなかった。

【考察】

実験 2・3 の結果から、島皮質への EtBr 局所投与はその 3 週間後における受動的回避学習の記憶保持のみを阻害した。また、実験 1 から、EtBr の投与 1 週間後ではニューロンとグリア細胞は双方とも細胞数の増減や構造異常を示していたが、3 週間後には対照側の皮質構造に類似していた。大脳皮質では一端ニューロンが損傷すると、原則として大脳皮質ニューロンは増殖しないと考えられている。そのため、3 週間後であっても、脱落したニューロンが作っていた皮質内での局所ニューロン回路網や島皮質と他の脳領域との神経連絡は再生してはいないと考えられる。一方、グリア細胞はニューロンと異なり、細胞増殖し、他の脳領域からのグリアの遊走移動による補充もあるため、機能・構造が回復する。実験 1 からも、1 週間後から 3 週間後にかけて島皮質でのグリア関連の組織構造の再構築が示唆された。以上の組織損傷とその時間変動を踏まえると、大きな構造異常を示す 1 週間後の時点では、島皮質は完全な機能不全に陥っていたため、味覚嫌悪学習・受動的回避学習ともに皮質下構造などの代償機能が健常な学習を形成させたと考えられる。3 週間後でのグリア関連組織再構築の時点では、島皮質内外でのニューロン回路は修復されてはいないが味覚嫌悪学習には影響はなかった。一方、受動的回避学習ではそのような島皮質での不完全な構造・機能の再構築が記憶保持に対して障害的に作用すると考えられる。つまり、島皮質のニューロンとグリアの双方の損傷後にグリア関連の構造・機能の回復が生じても、ニューロン－グリア機能連関には一定期間にわたり異常が残存し、健常なニューロン回路網は再構築されないため、受動的回避学習の記憶保持に関わる島皮質機能は完全に回復しないと示唆される。（行動生理学）