

学位審査報告書

(ふりがな) 氏名	みやわき ひろゆき 宮脇 寛行
学位(専攻分野)	博士(理学)
学位記番号	理博第 号
学位授与の日付	平成 年 月 日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	理学研究科 生物科学専攻
(学位論文題目) 中枢神経系における単一シナプスの機能と形態の解析	
論文調査委員	(主査) 平野 丈夫 教授 七田 芳則 教授 土井 知子 准教授

理学研究科

(続紙 1)

京都大学	博士 (理学)	氏名	宮脇 寛行
論文題目	中枢神経系における単一シナプスの機能と形態の解析		

(論文内容の要旨)

哺乳類中枢神経系のシナプスは、様々な生理学的特性ならびに形態学的特性を示す。しかし、それらの特性間にどのような関係があるのかは明らかにされていない。そこで、本研究ではシナプスの様々な特性間の相関を明らかにするため、単一のシナプスに由来する興奮性シナプス後電流 (EPSC) を記録し、同時にその形態も記録する方法を確立した。具体的には、シナプスを介してつながった一対の細胞を、異なる色の蛍光色素あるいは蛍光タンパク質で標識することで形態を可視化した。さらに、薬剤により活動電位発生を抑制した状態で、形態的に同定したシナプス前終末の近傍に置いた θ 管ガラス刺激電極から電気パルスを与え、単一のシナプス前終末のみを活性化してシナプス後細胞から電流応答を記録した。この方法を、中枢神経系内グルタミン酸作動性の興奮性シナプスの代表としてよく研究されてきた、海馬錐体細胞上の興奮性シナプスと小脳顆粒細胞-プルキンエ細胞間シナプスに適用した。また、単一シナプス由来の電流応答を波形に基づいて分類することで、量子 EPSC (qEPSC) を推定する方法も確立した。

これらの方法を用いて、ラット海馬および小脳の初代分散培養神経細胞間のシナプスで、qEPSC の特性と形態学的な特性を検討した。その結果、シナプス後スパインの大きさは海馬錐体細胞より小脳プルキンエ細胞の方が大きく、qEPSC の時間経過は海馬の方が小脳よりも速い事が明らかとなった。また一度にシナプス前終末から放出される小胞の数は小脳の方が多かった。さらに、これらの特性間の関係を解析したところ、海馬と小脳で異なる相関が認められた。海馬においては、qEPSC の振幅と減衰時間がシナプス後スパインの大きさと相関していた。一方、小脳では、シナプス前終末の大きさと、シナプス後スパインの大きさならびに一度に放出される小胞の数に相関が認められた。これらの結果は、海馬と小脳のシナプスにおいてシナプス前部と後部の構造、およびそれらとシナプス機能の制御メカニズムが異なることを示唆している。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

脳内の神経細胞間の情報伝達はシナプスを介して行われるが、シナプスには多様性があり、それが脳の高次情報処理に貢献していると考えられる。哺乳類中枢神経系内のシナプスは様々な生理学的特性ならびに形態学的特性を示すが、その詳細と特性間の相関はよくわかっていない。本研究では、シナプスの諸性質とそれらの相関を明らかにするために、単一のシナプスに由来する興奮性シナプス後電流 (EPSC) 応答と、シナプス形態を同時に記録する方法を確立した。シナプス形成している一対の神経細胞を、異なる色の蛍光色素あるいは蛍光タンパク質で標識して、シナプス前および後部の形態を可視化した。その上で、フグ毒により活動電位発生を抑制した状態で、形態的に同定したシナプス前終末の近傍に配置した刺激電極から電気パルスを与え、単一のシナプス前終末のみを活性化して、シナプス後細胞から電流応答を記録した。この方法を、中枢神経系内グルタミン酸作動性シナプスの代表である海馬錐体細胞上のシナプスと小脳顆粒細胞-プルキンエ細胞間興奮性シナプスに適用した。また、シナプス前部からの伝達物質放出の単位であるシナプス小胞一つに対する応答 (qEPSC と呼ばれる) を推定する新手法も開発した。

これらの方法を用いて、ラットの海馬および小脳の初代分散培養細胞のシナプスで、qEPSC と形態学的な特性を調べた。その結果、シナプス後スパインの大きさは海馬錐体細胞より小脳プルキンエ細胞の方が大きく、qEPSC の時間経過は海馬の方が小脳よりも速い事が明らかとなった。また一度にシナプス前終末から放出される小胞の数は小脳の方が多かった。さらに、これらの特性間の関係を解析し、海馬と小脳で異なる相関があることを明らかにした。海馬では、qEPSC の振幅と減衰時間がシナプス後スパインの大きさと相関していた。一方、小脳では、シナプス前終末の大きさと、シナプス後スパインの大きさならびに一度に放出される小胞の数に相関が認められた。これらの結果は、シナプス前部と後部の構造、およびそれらとシナプス機能の制御メカニズムが海馬と小脳のシナプスで異なることを示唆している。

上述したように、申請者は哺乳類シナプスの特性の詳細を、一シナプスレベルで解析する新手法を確立し、シナプスの機能的・形態的特性およびそれらの相関が、海馬と小脳のシナプスで異なることを明らかにした。これらの成果は、中枢神経系内のシナプス伝達の理解の深化に寄与する重要な知見である。よって、本論文は博士 (理学) の学位論文として価値あるものと認められる。また、平成 23 年 1 月 25 日に論文内容とそれに関連した口頭試問を行い、その結果合格と認めた。