

京都大学	博士（工学）	氏名	中尾 章人
論文題目	Elucidation of Ca ²⁺ channel function in higher brain function (Ca ²⁺ チャネルの脳高次機能における機能の解明)		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>カルシウムイオン (Ca²⁺) はセカンドメッセンジャーとして、細胞応答に重要な役割を果たす。細胞内 Ca²⁺濃度 ([Ca²⁺]_i) は低く (≦100 nM) 維持されているが、細胞に刺激が加わると細胞外からの Ca²⁺流入を介して[Ca²⁺]_i が上昇し、様々な生理応答が惹起される。神経系においては、Ca²⁺が神経伝達物質の放出、シナプス可塑性及び神経の発達を含む様々な生理応答に必要な不可欠である。</p> <p>本論文は序論、本論4章、結論から構成され、脳高次機能における Ca²⁺チャネルの役割 (第1章、第4章) および Ca²⁺チャネル複合体の分子実体の同定及び生理機構の解析に取り組んでいる (第2章、第3章)。</p> <p>序論では、細胞内における Ca²⁺の重要性、Ca²⁺チャネルの説明と先行研究の現状、及び本研究の意義などがまとめられている</p> <p>第1章では、欠伸てんかんのモデルマウスである Ca²⁺チャネルα₁サブユニット Ca_v2.1 の点変異マウス <i>tottering</i> (<i>tg</i>)の海馬において、分子から個体レベルまで多階層に渡る解析を行っている。神経ネットワークレベルにおける解析では、海馬 CA3 領域より発生するてんかん様のコリン作動性ネットワーク活動を測定し、<i>tg</i> マウスにおいて神経細胞間の同期活動が増強していることを明らかにした。さらにこの原因として、細胞レベルで細胞内 Cl⁻ホメオスタシスおよび GABA_A 受容体サブユニットの発現の未成熟化に起因する抑制性 GABA_A 応答の成熟遅滞を示した。加えて長期増強および反復刺激後増強を測定したところ、<i>tg</i> マウスの CA3-CA1 シナプスにおける応答は正常であるのに対し、<i>mossy fiber</i>-CA3 シナプスにおける応答は有意に減弱していることを示した。個体レベルの解析においては、<i>tg</i> マウスはモリス水迷路を用いた課題に関して、参照記憶の著しい障害を示した。以上ことから、欠伸てんかんモデルマウスである <i>tg</i> においては、CA3 領域における GABA_A 応答の未成熟化に起因する神経細胞間の同期活動の増加と、<i>mossy fiber</i>-CA3 シナプスの可塑性異常という二つの要因の組み合わせにより、参照記憶の障害が起こることを明らかにした。これはてんかんに併発する認知障害に関する、新しい機構を提案する。</p> <p>第2章では、γ-Rab3-interacting molecule (RIM)を含む全ての RIM タンパク質(RIM1α、RIM2α、RIM3γ、RIM4γ)が β サブユニットと結合し、Ca²⁺チャネルの電位依存性不活性化を抑制することを明らかにした。また、この共通の機能により、RIM タンパク質は PC12 細胞のアセチルコリン放出を促進する事を明らかにした。一方で、γ-RIM は神経伝達物質を含む小胞の膜直下への集積を阻害する点において α-RIM と異なっていた。培養小脳顆粒細胞において、γ-RIM のノックダウンは、α-RIM をノックダウンした時と比較して、グルタミン酸放出の抑制の度合いが減少していた。これらの結果から、RIM タンパク質による Ca²⁺流入の持続は、神経細胞に普遍的な性質である一方、Ca²⁺チャネル近傍へのシナプス小胞の局在制御は α-RIM による促進と γ-RIM による抑制の競合によって制御されていることを明らかにした。</p> <p>第3章では、Ca²⁺チャネル複合体を形成する際の足場として中心的な役割を果たす β サブユニットに着目し、酵母ツーハイブリット法により機能未知の新規タンパク質である、Calcium channel processing protein (Caprin)を得た。この Caprin は電位依存性 Ca²⁺チャネルとユニークな様式で結合し、ダイナミクスや細胞内局在を調節することを明らかにした。Caprin の生理的な重要性を明らかにするため、Caprin ノックアウトマウスを作製し検討を行ったところ、特に神経細胞の樹状突起の形態に異常を示すことが明らかとなった。電子顕微鏡を用い詳細に形態を評価したところ、海馬 CA1 領域の</p>			

京都大学	博士（工学）	氏名	中尾 章人
<p>錐体細胞において、樹状突起スパインの密度の減少、スパインネックが有意に短いことが明らかにした。これらのことにより、Caprin は電位依存性 Ca^{2+}チャネル複合体のダイナミクスおよび細胞内局在を決定付ける分子であり、神経細胞の樹状突起の形態変化に関わる Ca^{2+}流入に関与することを示している。</p> <p>第4章では、網羅的行動テストバッテリーを行うことにより、Caprin ノックアウトマウスの精神疾患様の行動異常を検討した。その結果 Caprin ノックアウトマウスは特に恐怖条件付け学習において有意な減弱が認められ、それを補償するように先天的な不安傾向が増強していた。加えて、興味深いことに、Caprin ノックアウトマウスは活動量の低下、sensorimotor gating 機能を反映する指標であるプレパルス抑制の上昇や作業記憶の向上等、統合失調症のモデルマウスが示す表現型とは反対の表現型を示すことも明らかにした。これらのことにより、Caprin が脳機能を抑制する非常に興味深い知見が得られ、Caprin 制御下の Ca^{2+}チャネルの精神疾患への関与を示唆された。</p> <p>結論では本論文で得られた成果について要約している。</p>			

氏名	中尾 章人
----	-------

(論文審査の結果の要旨)

本論文は、脳高次機能における Ca^{2+} チャネルの機能解明を目的とし、分子から個体レベルまで様々な階層で行われた研究成果をまとめたものであり、得られた主な成果は次のとおりである。

てんかんはしばしば認知機能障害を伴い、患者のクオリティ・オブ・ライフの低下の原因となるが、そのメカニズムについては不明であった。本論文では、欠伸てんかんのモデルマウスである Ca^{2+} チャネル点変異マウスを用いててんかんの併存症としての認知機能障害のメカニズムを明らかにしており、診断基準や治療方針の確立に役立つと考えられる。

加えて、神経伝達物質放出に重要な役割を果たす Ca^{2+} チャネル複合体の機能解析を行い、 Ca^{2+} チャネルの制御機構を明らかにしている。

さらに、 Ca^{2+} チャネル複合体のダイナミクスおよび細胞内局在を決定付ける新規分子を同定し、ノックアウトマウスを用いた行動解析によりその分子の精神疾患症状への関与を示しており、精神疾患症状への予防、治療法開発に大きく貢献できると期待される。

以上、本論文では、脳高次機能における Ca^{2+} チャネルの機能及び、その異常が引き起こす病態の解明を目的に多階層における解析が行われている。得られた成果は、学術上、實際上寄与するところが少なくない。よって、本論文は博士(工学)の学位論文として価値あるものと認める。また、平成26年8月22日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行って、申請者が博士後期課程学位取得基準を満たしていることを確認し、合格と認めた。

なお、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

要旨公開可能日： 2014年 9月 24日以降