

氏 名	髭 俊 秀
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学位記番号	理 博 第 3311 号
学位授与の日付	平 成 20 年 3 月 24 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 学 専 攻
学位論文題目	神 経 ス テ ロ イ ド に よ る シ ナ プ ス 増 強 機 構 の 研 究

論文調査委員 (主査) 教授 藤吉好則 教授 平野丈夫 教授 阿形清和

論 文 内 容 の 要 旨

硫酸プレグネロン (PREGS) は、脳内において神経細胞やグリア細胞から分泌される内在性の神経ステロイドであり、外部から投与した場合、記憶を昂進させる作用を持つことが知られている。また興奮性シナプスにおいて、PREGSは神経伝達物質の放出を促進するとの報告がなされているが、その詳細な作用機序は明らかにされておらず、より直接的な方法によって検討する必要がある。本研究では、シナプスにおけるPREGSの作用をラット脳幹スライス標本中のcalyx of Heldを用いて詳細に解析した。このシナプスは神経終末が巨大であるため、神経終末から直接ホールセル記録を行うことが可能である。まず、PREGSは興奮性シナプス後電流 (EPSC) の振幅を増大し、単一小胞性の自発性微小EPSCの振幅は不変であったことなどから、PREGSの作用はシナプス前性であることが示唆された。神経終末においてホールセル記録を行った結果、PREGSは電位依存性カルシウムチャネルの活性化キネティクスを速め、電位依存性を負電位にシフトすることで、カルシウム電流を促進した。一方、神経終末のカリウム電流、静止膜電位、活動電位波形には影響が無いことが確認された。シナプス前終末と後細胞の両方から同時ホールセル記録を行い、シナプス前終末におけるカルシウム流入とEPSCの相関を調べたところ、PREGSによる変化は認められなかったのでPREGSはカルシウム流入以降のシナプス小胞放出過程には作用しないことが示唆された。PREGSはカルシウム非存在下においても電位依存性カルシウムチャネルの開口を促進したので、この現象はカルシウム依存性ではないことが分かった。さらに、シクロデキストリンの一種がPREGSのスカベンジャーとして機能することを見出した。このスカベンジャーを細胞外から投与した際にはPREGSの作用を阻害したが、神経終末内に注入しても有効でなかったことから、PREGSは神経終末の細胞膜の外側に作用することが解明された。最後に、PREGSはHEK293細胞において強制発現したNおよびP/Q型カルシウムチャネルによる電流をいずれも促進することが明らかになった。以上の結果から、PREGSは神経終末上の電位依存性カルシウムチャネルの細胞外ドメインに直接作用し、電流を促進することでシナプスを増強すると考えられる。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

記憶・学習の基盤となるシナプス伝達効率の変化を生じさせる要因には、多くの場合神経修飾物質の作用を伴うことが知られている。神経修飾物質として機能する分子としては、アミノ酸やカテコールアミン、神経ペプチドなどの神経伝達物質の他に、ステロイドホルモンが知られている。近年、脳内のニューロンやグリア細胞において合成されるステロイドホルモンが存在することが明らかになり、神経ステロイドと呼ばれるようになってきている。その代表的な例として、硫酸プレグネロン (PREGS) がラット脳内で比較的豊富に存在し、動物実験により記憶を昂進させる作用が認められている。PREGSは、脳内において神経細胞やグリア細胞から分泌される内在性の神経ステロイドであり、外部から投与した場合、記憶を昂進させる作用を持つことが知られている。また興奮性シナプスにおいて、PREGSは神経伝達物質の放出を促進するとの報告がなされているが、その詳細な作用機序は明らかにされていなかった。本論文では、シナプスにおけるPREGSの作用をラッ

ト脳幹スライス標本中のcalyx of Heldを用いて詳細に解析した。このシナプスは神経終末が巨大であるため、神経終末から直接ホールセル記録を行うことが可能であるという特徴を最大限活用している。第一に、PREGSが興奮性シナプス後電流 (EPSC) の振幅を増大し、単一小胞性の自発性微小EPSCの振幅は不変であることを明らかにし、PREGSの作用はシナプス前性であることを示した。神経終末においてホールセル記録を行い、PREGSが電位依存性カルシウムチャネルの活性化キネティクスを速め電位依存性を負電位にシフトすることを発見すると共に、神経終末のカリウム電流、静止膜電位、活動電位波形には影響が無いことを確認した。シナプス前終末と後細胞の両方から同時ホールセル記録を行うことで、PREGSがカルシウム流入以降のシナプス小胞放出過程には作用しないことを確認すると共に、カルシウム非存在下においても電位依存性カルシウムチャネルの開口を促進したので、この現象はカルシウム依存性ではないことを解明した。さらに、シクロデキストリンの一種がPREGSのスカベンジャーとして機能することを発見し活用することによって、PREGSが神経終末の細胞膜の外側に作用することが解明された。しかも、PREGSがNおよびP/Q型カルシウムチャネルによる電流をいずれも促進することを発見し、PREGSが神経終末上の電位依存性カルシウムチャネルの細胞外ドメインに直接作用して電流を促進することでシナプスを増強するというモデルを提案した。

以上のように、本論文は博士（理学）の学位論文として十分に価値あるものと認める。また、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。