

氏名	さか がみ ゆう 阪 上 優
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 2912 号
学位授与の日付	平 成 17 年 9 月 26 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	医 学 研 究 科 脳 統 御 医 科 学 系 専 攻
学位論文題目	Essential roles of Homer-1a in homeostatic regulation of pyramidal cell excitability : a possible link to clinical benefits of electroconvulsive shock. (大脳皮質錐体細胞興奮性の恒常性調節における Homer-1a の役割 : 電気けいれん刺激の臨床的効果との関連性)
論文調査委員	(主 査) 教 授 河 野 憲 二 教 授 大 森 治 紀 教 授 高 橋 良 輔

### 論 文 内 容 の 要 旨

Homer1a/Ves11S (以下 Homer1a) は, Homer/Ves1 family に属する細胞内の足場タンパクの一種である。Homer1a は, 電気けいれん刺激などの強い刺激後に細胞内に急速に発現され, 短時間で消失することが知られている。今回, ラットの大脳皮質錐体細胞を用いて, Homer1a の細胞内における興奮性制御の機序について調べた。さらに, ラットに電気けいれん刺激を行い, 刺激後の錐体細胞の興奮性の減弱と, Homer1a の関連性についても考察を行った。

まず, Homer1a を微小なガラス電極から錐体細胞内に直接注入し, 静止膜電位を測定した。Homer1a 注入後には, 約 6mV 過分極を示し, blind experiment においても同様の結果が得られた。次に, 錐体細胞に脱分極刺激を与えて, 膜の興奮性を調べた。Homer1a 存在下では, 活動電位の発火頻度の低下が認められた。これら Homer1a による静止膜電位の過分極作用や活動電位の発火頻度の低下は, mGluR group I が活性化されて IP<sub>3</sub> 産生が増加し, inositol-induced calcium release (IICR) が惹起された後, BK channel が活性化されることが関与していると推測された。

さらに, BK channel の活性化を明らかにするために, パッチクランプ法にて -80mV に電位を固定した後, -70mV から -40mV まで 10mV ずつ電位を上昇させて, BK channel current を測定し, 著明な BK channel current の増大を認めた。

次に, 難治性うつ病などに対して臨床応用されている電気けいれん療法と, Homer1a の関連性について検討するために, ラットに電気けいれん刺激を与えた後, 錐体細胞の興奮性を測定した。まず, 電気けいれん刺激後, 1~5 時間後の記録 (early recording) と 7~11 時間後の記録 (late recording) に分けて, 静止膜電位を測定した。電気けいれん刺激後には, 多数の遺伝子の発現が予測されるが, Homer1a は最も発現量の多いタンパクの一つと報告されており, early recording では発現量がピークに達し, late recording では Homer1a の細胞内濃度は急速に低下しているものと推測される。Early recording の群では, Homer1a と同等程度の静止膜電位の過分極を示したが, late recording の群では control と有意差が認められなかった。さらに, early recording の群では, 脱分極刺激時の活動電位の発火頻度も減少していた。これらの傾向は, mGluR group I が活性化されて IP<sub>3</sub> 産生が増加し, IICR が惹起された後, BK channel が活性化されることが関与していると考えられ, Homer1a の作用機序との重複が推測された。

最後に, 電気けいれん刺激と Homer1a の関連性をより明確にするために, 電気けいれん刺激後に抗 Homer1a 抗体を細胞内に注入してみると, 上述の錐体細胞の過分極傾向と発火頻度の低下は打ち消された。以上の結果から, 電気けいれん刺激後には, Homer1a を介して神経細胞の興奮性が抑止されることが推測された。今回の実験によって, 精神神経疾患に対する電気けいれん療法においては, Homer1a を介する興奮性の feedback regulation が, その作用機序の一つとして関与している可能性が示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

Homer1aは、電気けいれん（ESC）などの強い急速に発現され、短時間で消失することが知られている。本研究では、ラットの大脳皮質錐体細胞を用いて、Homer1aの興奮性制御の機序と、Homer1aとESCとの関連性について検討した。

まず、パッチクランプ法を用いて、Homer1aを錐体細胞内に直接注入すると、約6mV過分極を示した。次に、錐体細胞に脱分極刺激を行い、膜の興奮性を調べたところ、Homer1a存在下では、活動電位の発火頻度の低下が認められた。これら興奮性の減弱は、mGluR group Iが活性化されてIP<sub>3</sub>産生が増加し、IICRが惹起された後、BK channelが活性化されることが推測された。また、Homer1a注入後にBK channel currentを測定すると、著明なBK channel currentの増大が確認された。

次に、ラットにESCを行ったところ、Homer1aと同等程度の静止膜電位の過分極を示し、脱分極刺激時の活動電位の発火頻度も減少していた。さらに、抗Homer1a抗体を用いたところ、ESC後の錐体細胞の過分極傾向と発火頻度の低下は、抗Homer1a抗体によって打ち消された。以上の実験によって、精神科領域で行われるESC療法は、Homer1aを介する興奮性のfeedback regulationが、その作用機序の一つとして関与している可能性が示唆された。

本研究は、電気けいれん療法の奏功機転の解明に貢献し、今後のうつ病治療法の開発にも寄与するところが多い。したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。なお、本学位授与申請者は、平成17年8月25日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格を認められたものである。