TITLE:

Frequency-dependent requirement for calcium store-operated mechanisms in induction of homosynaptic long-term depression at hippocampus CA1 synapses(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Nakano, Makoto

CITATION:

Nakano, Makoto. Frequency-dependent requirement for calcium store-operated mechanisms in induction of homosynaptic long-term depression at hippocampus CA1 synapses. 京都大学, 2004, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2004-09-24

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/145290>

RIGHT:

氏 名	なか の まこと 中 野 真 人
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2788 号
学位授与の日付	平 成 16 年 9 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	医 学 研 究 科 脳 統 御 医 科 学 系 専 攻
学位論文題目	Frequency-dependent requirement for calcium store-operated mechanisms in induction of homosynaptic long-term depression at hippocampus CA1 synapses. (海馬 CA1 領域におけるシナプス長期抑圧の誘導には細胞内カルシウムストアが作動するメカニズムが刺激周波数に応じて必要になる)
論文調査委員	(主 査) 教 授 大 森 治 紀 教 授 中 西 重 忠 教 授 金 子 武 嗣

論 文 内 容 の 要 旨

海馬の CA1 領域でのシナプスの長期抑圧 (LTD) を誘導するメカニズムの仮説として, NMDA 受容体から流入するカルシウムに依存するという説と, 細胞内カルシウムストアにあるリアノジン受容体や IP_3 受容体から放出されるカルシウムに依存するという説とがある。この両者のメカニズムが同じシナプスに存在することは報告されているが, 各々がどのように関わっているのか, という点については不明であった。ここでは, これら 2 つのメカニズムの関係について検討した。

まず, LTD 誘導の NMDA 受容体に対する依存性と細胞内カルシウムストアに対する依存性との相違点を調べるために, 刺激周波数と誘導される LTD の大きさの関係について実験した。通常条件下では, 1Hz の刺激が最も大きい LTD を起こし, 0.5Hz や 2Hz の刺激は弱い LTD を起こした。NMDA 受容体阻害薬である APV の存在下では, どの周波数でも LTD が抑制された。一方, 細胞内カルシウムストアを枯渇させるサブシガーギンや, リアノジン受容体の阻害薬であるリアノジンの存在下では, 0.5Hz や 2Hz の刺激では LTD が抑制されたが, 1Hz の刺激では抑制されなかった。以上の結果から, LTD 誘導の NMDA 受容体に対する依存性は刺激周波数には関係がないが, 細胞内カルシウムストアに対する依存性は刺激周波数により異なることがわかった。

次に, LTD 誘導の細胞内カルシウムストアに対する依存性について更に深く調べるために, リアノジン受容体からのカルシウム放出を増強する作用があるカフェインを用いて実験を行った。1Hz の刺激では LTD の大きさに変化がなかったが, 0.5Hz の刺激で LTD の大きさが増幅された。カフェインには, カルシウム放出の増強作用のほかにも薬理作用があることが知られているが, この 0.5Hz での LTD の増幅は, ストアを枯渇させるサブシガーギンで前処置することで消失するので, カルシウムストアの作用によるものと考えられた。

更に, カフェインと NMDA 受容体阻害薬の APV, もしくは MK801 を同時に投与してみたところ, 0.5Hz での LTD 増幅は抑制されず, カフェイン単独投与のときと有意な差を認めなかった。このことから, NMDA 受容体に依存せずに, 細胞内カルシウムストアだけに依存した LTD 誘導機構が存在することが示された。

カルシウムストアはシナプス後だけでなくシナプス前にも存在する。そこでこの NMDA 非依存性 LTD がどちら側のストアにより誘導されるのかを調べるため, パッチクランプ法を用いて, シナプス後のニューロンだけにリアノジン受容体阻害薬のルテニウムレッドを注入して実験を行った。カフェインによって増強される LTD がルテニウムレッドで抑制されることがわかり, この NMDA 非依存性 LTD はシナプス後のストアによるものであることが示された。

以上の結果より, 通常の条件では NMDA 受容体に依存した機構が LTD を誘導するが, ある条件下では, NMDA に非依存性で細胞内カルシウムストアに依存する機構により LTD を誘導しうることがわかった。生理的には, heterosynaptic LTD のようなシナプスの入力に伴わない場合の LTD などに関わっているものと推測される。また, この機構が表に出てくるための条件としては, リアノジン受容体の生理的活性物質といわれる cADP リボースや FK 結合タンパクなどの寄与

が考えられる。

論文審査の結果の要旨

海馬 CA1 でのシナプス長期抑圧 (LTD) の誘導機構の仮説として、NMDA 受容体に依存するという説と、細胞内 Ca^{2+} ストアのリアノジン受容体 (RyR) に依存するという説がある。本研究は、これら 2 つのメカニズムの関係を解明することを目的とした。

まず両者の相違点を検討するため、LTD 誘導の刺激周波数と LTD の大きさの関係を調べた。その結果、LTD 誘導の NMDA 受容体依存性は刺激周波数に関係ないが、 Ca^{2+} ストア依存性は刺激周波数により異なることがわかった。

RyR 作動薬のカフェインの投与により、0.5Hz の刺激で LTD の大きさが増幅され、カフェインと NMDA 受容体阻害薬の同時投与では、この LTD 増幅は抑制されなかった。この結果から、NMDA 受容体に依存せずに、 Ca^{2+} ストアに依存した LTD 誘導機構の存在が示唆された。更にこの NMDA 非依存性 LTD は、シナプス後のニューロンだけに RyR 阻害薬を注入すると抑制されることから、シナプス後の Ca^{2+} ストアに依存することがわかった。

これらの結果より、通常は NMDA 受容体に依存した機構が LTD を誘導するが、ある条件下では、NMDA 受容体に非依存性で細胞内 Ca^{2+} ストアに依存する機構により LTD を誘導しうることが示された。

以上の研究はシナプス長期抑圧の誘導機構の解明に貢献し、学習や記憶など高次脳機能の分子機構の理解に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16年8月2日に実施された論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。