

氏名	みなみ 南	いつ 一	なり 成
学位(専攻分野)	博士(理学)		
学位記番号	理博第2684号		
学位授与の日付	平成15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	理学研究科生物科学専攻		
学位論文題目	小脳プルキンエ細胞における代謝型グルタミン酸受容体1型の長期増強とその発現機構		
論文調査委員	(主査) 教授 平野 丈夫	教授 藤吉 好則	教授 上村 匡

### 論文内容の要旨

学習・記憶に際しては、脳内で何らかの変化が生じているはずである。そうした変化の細胞レベルでの過程として、シナプス可塑性と呼ばれる現象が重要と考えられている。シナプスは神経細胞間で情報伝達を行う部位であり、シナプス前終末から放出された神経伝達物質がシナプス後細胞の受容体と結合することにより情報を伝えている。脳内で最も一般的なグルタミン酸を伝達物質とする興奮性シナプスで発現している受容体は、イオントロピック型と代謝型の2種類に大別される。海馬長期増強や小脳長期抑圧などのグルタミン酸性シナプスにおけるシナプス可塑性においては、神経細胞活動によりイオントロピック型グルタミン酸受容体の応答が持続的に変化すると考えられている。一方、代謝型グルタミン酸受容体が神経活動により持続的な変化をするか否かは不明であった。本研究ではマウスの小脳培養細胞系において、代謝型グルタミン酸受容体1型(mGluR1)活性の神経活動による持続的な変化について研究を行った。

培養小脳プルキンエ細胞における mGluR1 の活性を、細胞内カルシウムイメージング法およびホールセルパッチクランプ法により測定した。mGluR1 活性化によるカルシウム応答と電流応答が、培養プルキンエ細胞の脱分極によって数時間にわたり増強することを見出した。この mGluR1 応答の長期増強を引き起こす分子機構を明らかにするため、培養プルキンエ細胞における mGluR1 の細胞内局在変化を細胞外ドメインに対する抗体を用いた免疫染色法によって調べた。その結果、プルキンエ細胞の脱分極によって、mGluR1 の細胞表面から細胞内への取り込みが減少し、細胞表面の mGluR1 数が増加することがわかった。次に mGluR1 の局在変化を引き起こす機構を解析した。Homer1a の mRNA 量が脱分極によって数時間にわたり増加すること、また mGluR1 と Homer1a を HEK293 細胞で共発現させると、mGluR1 のみを発現させた場合に比べ、mGluR1 の細胞表面から細胞内への取り込みが減少することがわかった。さらに、脱分極により引き起こされる Homer1a の mRNA 発現量増加と mGluR1 の細胞内局在の変化そして mGluR1 を介するカルシウム応答の増強すべてが MAP キナーゼ活性に依存していることも判明した。

以上の結果は、プルキンエ細胞の脱分極により MAP キナーゼ活性依存的に Homer1a が増加し、それが mGluR1 の細胞膜から細胞内への取り込みを抑えることによって、細胞表面の mGluR1 数が増加して、mGluR1 応答の長期増強が起こることを示唆している。

### 論文審査の結果の要旨

本研究は、分子生物学および電気生理学的手法を用いた実験により、小脳プルキンエ細胞における代謝型グルタミン酸受容体の長期増強を発見し、さらにその分子機構を明らかにしたものである。申請者は、まず細胞内カルシウムイメージング法とホールセルパッチクランプ法を用いて、培養プルキンエ細胞における mGluR1 を介するカルシウム応答と電流応答が脱分極により持続的に増強することを見出した。次に申請者は、細胞免疫染色法により細胞表面の mGluR1 がプルキンエ細胞の脱分極によって増加すること、および mGluR1 の細胞表面から細胞内への取り込みが抑制されることを示して、

mGluR1 応答の増強は mGluR1 の細胞内への取り込みが抑制されて細胞表面の mGluR1 が増加することに起因すると推定した。さらに申請者は、mGluR1 の細胞内局在変化を引き起こす分子として Homer1a に注目して、プルキンエ細胞の脱分極により Homer1a の mRNA 発現量が増加すること、HEK293 細胞において Homer1a と mGluR1 を共発現すると、Homer1a が mGluR1 の細胞内への取り込みを抑制することを示した。そして、Homer1a の発現量増加・mGluR1 の細胞内局在の変化・mGluR1 応答の増強の三者すべてが、MAP キナーゼの活性に依存することを明らかにした。これらの結果から、プルキンエ細胞の脱分極により MAP キナーゼ活性依存的に Homer1a が増加し、それが mGluR1 の細胞膜から細胞内への取り込みを抑えることにより、細胞表面の mGluR1 が増加して、mGluR1 の長期増強が起こるという mGluR1 長期増強発現機構を推定した。

本研究は、代謝型グルタミン酸受容体の長期増強というシナプス可塑性を発見し、その発現機構の概要を明らかにしたもので、シナプス可塑性と代謝型グルタミン酸受容体のはたらきについての重要な研究である。したがって、本論文は博士（理学）の論文として価値あるものと認める。なお、主論文に報告されている研究業績を中心として、これに関連した研究分野について試問した結果、合格と認めた。