

氏 名	すぎやま ゆうこ
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	理 博 第 3308 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 科 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	代謝型グルタミン酸受容体 1 型による小脳抑制性シナプス可塑性の制御

論文調査委員 (主 査) 教 授 平 野 丈 夫 教 授 七 田 芳 則 教 授 阿 形 清 和

論 文 内 容 の 要 旨

神経細胞間の情報伝達効率が、神経活動に応じて長期的に変化する現象は、シナプス可塑性と呼ばれ、記憶や学習の細胞レベルでの基礎過程であると考えられている。小脳皮質においては、抑制性介在ニューロンとプルキンエ細胞間に γ -アミノ酪酸 (GABA) 作動性のシナプスが形成されている。このシナプスにおけるイオン透過型受容体である GABA_A 受容体を介する応答は、シナプス後プルキンエ細胞の強い脱分極により長時間増強される。Rebound Potentiation (RP) と呼ばれるこのシナプス可塑性の誘導は、プルキンエ細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇による Ca^{2+} /カルモジュリン依存性リン酸化酵素 II (CaMKII) の活性化を必要とする。また、脱分極と同時にシナプス前終末から GABA が放出されて、シナプス後部にある代謝型受容体の GABA_B 受容体が活性化された場合には、プルキンエ細胞内でプロテインキナーゼ A (PKA) の抑制を介して、脱リン酸化酵素を含む (calcineurin/DARPP-32/PP-1) 経路が働き、CaMKII 活性が抑えられて、RP 誘導は抑制される。

プルキンエ細胞膜上に豊富に発現している代謝型グルタミン酸受容体 1 型 (mGluR1) は、 G_q タンパク質との共役によりホスホリパーゼ C (PLC) やプロテインキナーゼ C (PKC) の経路を活性化し、長期抑圧や脱分極依存性シナプス前抑制などのシナプス可塑性において、重要な役割を担うことが知られている。mGluR1 の活性化は、TRPC1 チャンネルや細胞内ストアからの Ca^{2+} 放出、電位依存性 Ca^{2+} チャンネルの調節などを介して、細胞内 Ca^{2+} 濃度に多様な影響を及ぼす。また mGluR1 は G_q タンパク質だけでなく、アデニル酸シクラーゼ (AC)・PKA の経路を活性化する G_s タンパク質とも共役することが知られている。本研究では、RP 誘導の制御に mGluR1 が関与している可能性を検討した。

小脳培養細胞あるいは小脳切片標本を用いた電気生理学的 (パッチクランプ法) 実験により、プルキンエ細胞で GABA 投与に対する電流応答もしくは微小抑制性シナプス後電流 (mIPSCs) を記録して、RP 誘導が起こるか否かを調べた。mGluR1 阻害により、RP 誘導は抑えられた。この RP 抑制効果は、AC の活性化または PP-1 の抑制によって消失した。また、mGluR1 阻害は脱分極依存的に起こる CaMKII の活性化を抑えた。一方で、mGluR1 の活性化は、GABA_B 受容体による抑制から RP を回復させた。この RP 回復効果は、PKA の阻害によって抑えられた。また、リン酸化 DARPP-32 による PP-1 の抑制を妨げることにしても消失した。さらに、mGluR1 の活性化は、GABA_B 受容体による CaMKII 活性の抑制を打ち消した。mGluR1 活性化による RP 回復効果に対して、PLC や PKC の阻害は影響を与えなかった。また、mGluR1 の活性を変化させても、脱分極依存的な細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇に大きな影響は認められなかった。以上の結果から、mGluR1 の活性は RP 誘導に必要であり、RP 誘導を亢進する作用を持っていることが示された。また、mGluR1 による RP 誘導の制御において、mGluR1 活性化の下流では、AC と PKA の活性化、リン酸化 DARPP-32 による PP-1 の抑制、CaMKII の活性化が起きていることが示唆された。したがって、mGluR1 は PKA 活性に対して、GABA_B 受容体と拮抗した調節を行うことで、RP 誘導に対して正の制御を行っていると考えられる。

論文審査の結果の要旨

脳では、神経細胞がシナプスを介して情報伝達を行うことにより、感覚情報処理、運動制御を行い、また高次機能が営まれている。神経細胞間の情報伝達効率、その活動に応じて長期的に変化する。この現象は、シナプス可塑性と呼ばれ、記憶や学習の細胞レベルでの基盤と考えられている。小脳皮質においては、抑制性介在ニューロンは、唯一の出力神経細胞であるプルキンエ細胞上に γ -アミノ酪酸（GABA）作動性のシナプスを形成している。このシナプスでは、プルキンエ細胞の脱分極により、イオン透過型受容体であるGABA_A受容体を介する応答が長時間増強されるRebound Potentiation（RP）と呼ばれるシナプス可塑性が起こる。本研究以前に、RPは、プルキンエ細胞内Ca²⁺濃度の上昇によるCa²⁺/カルモジュリン依存性リン酸化酵素II（CaMKII）の活性化により引き起こされること、また、脱分極と同時にシナプス前終末からGABAが放出されると、シナプス後部にある代謝型受容体のGABA_B受容体が活性化され、それがプルキンエ細胞内でプロテインキナーゼAを抑制することにより、脱リン酸化酵素を含む細胞内情報伝達系がはたらいてCaMKII活性が抑えられて、RP誘導が抑制されることが分かっていた。

本研究では、プルキンエ細胞膜上に発現している代謝型グルタミン酸受容体1型（mGluR1）が、GABA_B受容体のはたらきと拮抗する形で、RP誘導を促進することを示し、さらにその分子機構を明らかにした。小脳培養細胞および小脳切片標本を用いた電気生理学的（パッチクランプ法）実験により、プルキンエ細胞にGABAを投与した際の電流応答もしくは微小抑制性シナプス後電流（mIPSCs）を記録した。様々な条件を検討し、さらに活性化CaMKIIの蛍光抗体染色実験も行った。その結果、mGluR1活性化により、G_sタンパク質を介してアデニル酸シクラーゼが活性化されてプロテインキナーゼAの活性化が起こること、プロテインキナーゼAはDARPP-32をリン酸化し、リン酸化されたDARPP-32はタンパク質脱リン酸化酵素のPP-1を抑制し、PP-1がCaMKIIのはたらきを妨げないようにすることにより、RP誘導が促進されることを示した。

以上のように本論文では、小脳プルキンエ細胞上の抑制性シナプスにおける可塑性制御に関する研究を行い、GABA作動性シナプス伝達制御に興奮性伝達物質であるグルタミン酸受容体の一つであるmGluR1が関与すること、およびその分子機構を明らかにした。これらの知見は哺乳類中枢神経系におけるシナプス可塑性のより深い理解に寄与する重要な成果であると評価できる。したがって、本論文は博士（理学）の学位論文として価値あるものと認められる。また、論文内容とそれに関連した試問を行い、合格と認めた。