

|             |                                                                                                                                                                                         |
|-------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 氏 名         | 宇田川 理 恵                                                                                                                                                                                 |
| 学位(専攻分野)    | 博 士 (医 科 学)                                                                                                                                                                             |
| 学 位 記 番 号   | 医 科 博 第 1 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      | 医 学 研 究 科 医 科 学 専 攻                                                                                                                                                                     |
| 学 位 論 文 題 目 | Blocking L-type calcium channels enhances long-term depression induced by low-frequency stimulation at hippocampal CA1 synapses<br>(L 型カルシウムチャンネルの薬理的遮断は海馬 CA1 シナプスでの低頻度刺激による長期抑圧を促進する) |
| 論文調査委員      | (主 査)<br>教 授 金 子 武 嗣 教 授 野 間 昭 典 教 授 渡 邊 大                                                                                                                                              |

### 論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、ラットの脳スライス標本を用い、電気生理学的手法と薬理学的操作を組み合わせることで、シナプス可塑性と呼ばれるニューロンのシグナル伝達効率変化の分子機構の解明を試みたものである。

シナプス可塑性の一種である長期抑圧の誘導には、細胞内カルシウムイオン濃度の上昇が必須条件である。カルシウムイオンは主に後シナプス細胞膜上にある受容体やチャンネルから流入するが、特にグルタミン酸受容体の一種である NMDA 受容体から流入するカルシウムイオンが重要であることがよく知られている。本論文では、異なるカルシウムイオン源にはそれぞれ固有の役割があることに着目し、まだあまり役割が知られていない T 型及び L 型の電位依存性カルシウムチャンネルの長期抑圧誘導への寄与について調べた。(1) ラット (生後 18-24 日齢) より脳を摘出し、海馬スライス標本作製した。シャッファー側枝 (シナプス前線維) を電気刺激することによって誘発される海馬 CA1 領域でのフィールド興奮性シナプス後電位を観察した。(2) シナプス前線維に 900 回の電気刺激を 0.5、1、2 Hz の頻度で施したところ周波数に応じて程度の異なる長期抑圧の誘導が観察された。過去の研究より刺激周波数別に長期抑圧の誘導に寄与する受容体やチャンネルが異なることが知られていることから、この程度の異なる長期抑圧を利用して NMDA 受容体と電位依存性カルシウムチャンネルの働きを比較検討した。(3) NMDA 受容体の拮抗剤 APV (50  $\mu$ M) を用いた実験により、全ての刺激周波数で NMDA 受容体の活性化が長期抑圧誘導には必須だった。(4) T 型電位依存性カルシウムチャンネルの遮断作用がある  $\text{NiCl}_2$  (50  $\mu$ M) を用いた実験では、長期抑圧の誘導程度はどの刺激周波数でも変化が見られなかった。(5) L 型電位依存性カルシウムチャンネル遮断剤 nimodipine (20  $\mu$ M) の投与では 2Hz 刺激で起こる長期抑圧には変化がなかったが、1Hz 刺激による長期抑圧は消失し、0.5Hz 刺激による長期抑圧は促進した。(6) L 型電位依存性カルシウムチャンネルの刺激剤 Bay-K8644 (10  $\mu$ M) を用いて 0.5Hz 刺激を行うと、長期抑圧の誘導は減少傾向を示した。(7) L 型電位依存性カルシウムチャンネル遮断剤で促進した 0.5Hz 刺激による長期抑圧は、小胞体のカルシウムイオン貯蔵枯渇剤 thapsigargin (5  $\mu$ M) を併用するとコントロールレベルに戻った。

以上の結果から、T 型電位依存性カルシウムチャンネルは長期抑圧の誘導に関わっていない可能性があると考えられる。L 型電位依存性カルシウムチャンネルは、遮断すると弱い刺激条件で起こる長期抑圧が促進し、この効果が小胞体のカルシウムイオン貯蔵枯渇剤によって抑えられることから、小胞体のカルシウムイオン放出に関連して作動していると考えられる。この結果から、L 型電位依存性カルシウムチャンネルは、通常の条件下での弱い刺激条件では長期抑圧が起こるのを防いでいる可能性が示唆される。NMDA 受容体はすべての刺激周波数によって誘導される長期抑圧に必須であったが、L 型電位依存性カルシウムチャンネルは刺激周波数依存的に長期抑圧の誘導を微調節していると考えられる。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文は、記憶や学習の分子基盤であると考えられている脳のシナプス可塑性のうち長期抑圧について、その誘導メカニ

ズムにおける Ca チャンネルの役割を電気生理学的手法を用いて検討したものである。

実験は、幼若ラットの脳スライス標本を用い、シナプス前線維を刺激し誘発されるフィールド興奮性シナプス後電位を海馬 CA1 領域で測定した。シナプス前線維に電気刺激を 0.5、1、2 Hz の頻度で施すと周波数に応じて程度の異なる長期抑圧が観察された。長期抑圧の誘導に必須である細胞内 Ca イオンの上昇に寄与する Ca チャンネルのうち①NMDA 受容体、②T型電位依存性 Ca チャンネル、③L型電位依存性 Ca チャンネルのそれぞれの役割について調べた。

拮抗剤を用いた実験から、NMDA 受容体の活性化が、0.5～2Hz の刺激で起こる長期抑圧の誘導に必須であることが明らかになった。遮断剤を用いた実験から、T型電位依存性 Ca チャンネルから流入する Ca イオンは長期抑圧の誘導に関係しないことが示唆された。L型電位依存性 Ca チャンネルを薬理的に遮断すると低い刺激周波数(0.5Hz)で誘導される長期抑圧が促進することが観察され、この働きには小胞体からの Ca イオン放出が関係していることが示唆された。

以上の研究は長期抑圧の誘導メカニズムの解明に貢献し、記憶や学習に関係の深いシナプス可塑性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（医科学）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 19 年 12 月 11 日実施の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。