

京都大学	博士（ 工 学 ）	氏名	中尾 章人
論文題目	Elucidation of Ca ²⁺ channel function in higher brain function (Ca ²⁺ チャネルの脳高次機能における機能の解明)		
（論文内容の要旨） カルシウムイオン（Ca²⁺）はセカンドメッセンジャーとして、細胞応答に重要な役割を果たす。細胞内 Ca²⁺濃度（[Ca²⁺]_i）は低く（≦100 nM）維持されているが、細胞に刺激が加わると細胞外からの Ca²⁺流入を介して[Ca²⁺]_i が上昇し、様々な生理応答が惹起される。神経系においては、Ca²⁺が神経伝達物質の放出、シナプス可塑性及び神経の発達を含む様々な生理応答に必要不可欠である。 本論文は序論、本論 4 章、結論から構成され、脳高次機能における Ca²⁺チャネルの役割（第 1 章、第 4 章）および Ca²⁺チャネル複合体の分子実体の同定及び生理機構の解析に取り組んでいる（第 2 章、第 3 章）。 序論では、細胞内における Ca²⁺の重要性、Ca²⁺チャネルの説明と先行研究の現状、及び本研究の意義などがまとめられている 第 1 章では、欠伸てんかんのモデルマウスである Ca²⁺チャネルα₁ サブユニット Ca_v2.1 の点変異マウス <i>tottering</i> (<i>tg</i>)の海馬において、分子から個体レベルまで多階層に渡る解析を行っている。神経ネットワークレベルにおける解析では、海馬 CA3 領域より発生するてんかん様のコリン作動性ネットワーク活動を測定し、<i>tg</i> マウスにおいて神経細胞間の同期活動が増強していることを明らかにした。さらにこの原因として、細胞レベルで細胞内 Cl⁻ホメオスタシスおよび GABA_A 受容体サブユニットの発現の未成熟化に起因する抑制性 GABA_A 応答の成熟遅滞を示した。加えて長期増強および反復刺激後増強を測定したところ、<i>tg</i> マウスの CA3-CA1 シナプスにおける応答は正常であるのに対し、<i>mossy fiber</i>-CA3 シナプスにおける応答は有意に減弱していることを示した。個体レベルの解析においては、<i>tg</i> マウスはモリス水迷路を用いた課題に関して、参照記憶の著しい障害を示した。以上ことから、欠伸てんかんモデルマウスである <i>tg</i> においては、CA3 領域における GABA_A 応答の未成熟化に起因する神経細胞間の同期活動の増加と、<i>mossy fiber</i>-CA3 シナプスの可塑性異常という二つの要因の組み合わせにより、参照記憶の障害が起こることを明らかにした。これはてんかんに併発する認知障害に関する、新しい機構を提案する。 第 2 章では、γ- Rab3-interacting molecule (RIM)を含む全ての RIM タンパク質(RIM1α、RIM2α、RIM3γ、RIM4γ)が β サブユニットと結合し、Ca²⁺チャネルの電位依存性不活性化を抑制することを明らかにした。また、この共通の機能により、RIM タンパク質は PC12 細胞のアセチルコリン放出を促進する事を明らかにした。一方で、γ-RIM は神経伝達物質を含む小胞の膜直下への集積を阻害する点において α-RIM と異なっていた。培養小脳顆粒細胞において、γ-RIM のノックダウンは、α-RIM をノックダウンした時と比較して、グルタミン酸放出の抑制の度合いが減少していた。これらの結果から、RIM タンパク質による Ca²⁺流入の持続は、神経細胞に普遍的な性質である一方、Ca²⁺チャネル近傍へのシナプス小胞の局在制御はα-RIMによる促進とγ-RIMによる抑制の競合によって制御されていることを明らかにした。 第 3 章では、Ca²⁺チャネル複合体を形成する際の足場として中心的な役割を果たす β サブユニットに着目し、酵母ツーハイブリット法により機能未知の新規タンパク質である、Calcium channel processing protein (Caprin)を得た。この Caprin は電位依存性 Ca²⁺チャネルとユニークな様式で結合し、ダイナミクスや細胞内局在を調節することを明らかにした。Caprin の生理的な重要性を明らかにするため、Caprin ノックアウトマウスを作製し検討を行ったところ、特に神経細胞の樹状突起の形態に異			

京都大学	博士（工学）	氏名	中尾 章人
常を示すことが明らかとなった。電子顕微鏡を用い詳細に形態を評価したところ、海馬 CA1 領域の錐体細胞において、樹状突起スパインの密度の減少、スパインネックが有意に短いことが明らかにした。これらのことにより、Caprin は電位依存性 Ca^{2+} チャンネル複合体のダイナミクスおよび細胞内局在を決定付ける分子であり、神経細胞の樹状突起の形態変化に関わる Ca^{2+} 流入に関与することを示している。 第 4 章では、網羅的行動テストバッテリーを行うことにより、Caprin ノックアウトマウス of 精神疾患様の行動異常を検討した。その結果 Caprin ノックアウトマウスは特に恐怖条件付け学習において有意な減弱が認められ、それを補償するように先天的な不安傾向が増強していた。加えて、興味深いことに、Caprin ノックアウトマウスは活動量の低下、sensorimotor gating 機能を反映する指標であるプレパルス抑制の上昇や作業記憶の向上等、統合失調症のモデルマウスが示す表現型とは反対の表現型を示すことも明らかにした。これらのことにより、Caprin が脳機能を抑制する非常に興味深い知見が得られ、Caprin 制御下の Ca^{2+} チャンネルの精神疾患への関与を示唆された。 結論では本論文で得られた成果について要約している。			