

審査の結果の要旨

氏 名 堀 哲 也

本研究はシナプス伝達修飾機構を明らかにするため、巨大シナプス前終末Calyx of Heldから直接記録が可能なラット脳幹台形体内側核(MNTB)スライス標本を用いた電気生理学的実験を行い、ホルボールエステルで誘導されるシナプス増強の解析を試みたものであり、以下の結果を得ている。

1. ホルボールエステルはCalyx-MNTBシナプスにおいて興奮性後シナプス応答(EPSC)を持続的に増強した。このとき、ホルボールエステルは自発性微小EPSC(mEPSC)の発生頻度を上昇させたが、mEPSCの振幅は増強しなかった。これらの実験結果からホルボールエステルはシナプス後細胞の受容体の感受性を変化せず、シナプス前終末に作用することが示された。
2. ホルボールエステルがシナプス前終末のCaチャンネル及びKチャンネルに作用する可能性を検討するため、シナプス前終末のCa電流とK電流を記録し、ホルボールエステルの作用を観察した。電位依存性Ca電流とK電流はいずれも変化しなかった。この実験結果からホルボールエステルはシナプス前終末へのCa流入過程以降のシナプス小胞開口放出機構へ作用することが示された。
3. このシナプス増強機構における蛋白リン酸化酵素 protein kinase C (PKC)の関与を考察するためPKC阻害剤存在下でのシナプス増強の程度を比較検討した。シナプス前終末へ直接PKC阻害剤を注入したところ、シナプス増強効果は抑制された。つづいて、シナプス前終末内Ca濃度の低下はシナプス増強ほとんど抑制しなかった。これらの実験結果から、ホルボールエステル誘発性のシナプス増強にはCa非感受性型のPKCであるPKC ϵ 分子種の関与が示された。

4. Doc2a-Munc13-1蛋白複合体形成阻害部分ペプチドであるMidペプチドをシナプス前終末へ注入したところ、ホルボールエステルによるシナプス増強が抑制された。
5. 高頻度刺激によりホルボールエステルの作用機構を検討したところ、ホルボールエステルは放出可能なシナプス小胞の数と、シナプス小胞の放出確率を共に上昇することが明かとなった。

以上、本論文はマウス中枢シナプスにおいて、増強作用を示すホルボールエステルの解析から、シナプス伝達における修飾の分子的、また機能的な機構を明らかにした。本研究はほ乳類中枢神経系でのシナプス修飾機構の理解に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。