

[別紙 1]

論文の内容の要旨

論文題名 Modulatory mechanisms for transmission at the brainstem synapse
 of rats

和訳 ラット脳幹シナプスにおける伝達の調節機構

指導教官 高橋智幸 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成 10 年 4 月入学

医学博士課程

機能生物学専攻

氏名 石川太郎

シナプス伝達はさまざまな機構により調節されることが知られている。しかし、中枢神経系におけるシナプス前終末からの伝達物質放出の調節機構については、シナプス前終末を直接的に電気生理学的手法を用いて調べるのが困難であったために、不明な部分が残されている。ラット脳幹の聴覚系中継核である台形体内側核 (MNTB) に存在する Calyx of Held と呼ばれる神経前終末は、哺乳類中枢神経系の軸索終末としては例外的に大きく、パッチクランプ法を適応することが可能である。

サイクロシアザイド (CTZ) は AMPA 型グルタミン酸受容体の脱感作の阻

害剤として広く用いられている一方で、シナプス前終末にも作用して伝達物質の放出を増強させることが報告されているが、そのシナプス前終末に対する作用機序は不明である。本論文では CTZ がシナプス前終末の K^+ チャンネルを抑制することを示し、さらに種々 K^+ チャンネル阻害剤を用いてシナプス前終末の K^+ チャンネルの薬理的性質を同定する。また、CTZ のシナプス後細胞への作用と関連した問題として、単一シナプス小胞から放出されたグルタミン酸によりシナプス後細胞のグルタミン酸受容体が飽和されているか否かという重要な問題を検討する。

若年ラットの脳幹スライスを作製し、ホールセルパッチクランプ法を用いて、シナプス前終末の K^+ 電流 (I_{pK})、 Ca^{2+} 電流 (I_{pCa}) および活動電位を記録し、シナプス後細胞より興奮性シナプス後電位 (EPSC) を記録した。

CTZ (100 μ M) の投与により EPSC の平均振幅、平均量子数 (quantal content)、及び微小 EPSC の頻度が増大したが、微小 EPSC の振幅は変化しなかった。これらのことから、CTZ が神経伝達物質の放出を増強させることが示された。次に、 I_{pK} 及び I_{pCa} に対する CTZ の作用を調べたところ、これらはいずれも CTZ 投与により抑制された。これら 2 つの作用を Ca^{2+} 濃度を減らし且つ 4-アミノピリジン (4-AP) を添加した溶液で模倣した。この溶液を灌流すると、伝達物質放出は有意に増強したが、この増強は CTZ による増強よりも有意に小さかった。したがって、CTZ の I_{pK} 抑制作用はその I_{pCa} 抑制作用を凌駕して伝達物質放出を増強することが示され、さらに、CTZ はこれらイオン電流以外に Ca^{2+} 流入以降の開口放出機構にも作用して伝達物質放出を増強していることが示唆された。

シナプス前終末の K^+ チャンネルの薬理的性質と伝達物質放出におけるその役割を調べた。 I_{pK} は 4-AP に対し感受性が高く、その投与によりほぼ完全に抑制されたが、テトラエチレンアンモニウム (TEA) によっては部分的に抑制を受

けた。デンドロトキシン及びカドミウムイオンは I_{pK} に対して効果がなかった。これらの結果から、 I_{pK} には TEA 感受性の成分と TEA 抵抗性の成分が存在し、前者は Kv3 チャンネル、後者は Kv1.3 もしくは Kv1.5 に由来するものであることが示唆された。また、EPSC の振幅は 4-AP 及び TEA により顕著に増大した。このことから、 K^+ チャンネルは伝達物質放出において重要な役割を担っていることが示唆された。

CTZ は AMPA 受容体のグルタミン酸への親和性を増大させるにもかかわらず、微小 EPSC の振幅に対して効果がなかった。このことは、シナプス後細胞の受容体が単一小胞から放出されるグルタミン酸により飽和しているという仮説と矛盾しない。この仮説を直接的に検討するため、高濃度のグルタミン酸をシナプス前終末に注入したところ、AMPA 受容体性および NMDA 受容体性の EPSC はいずれも著明に増大した。このことから、受容体は飽和していないと結論される。以上の結果から、微小 EPSC の振幅は平衡状態における親和性よりもむしろ非平衡状態での結合速度により決定されることが示唆される。

以上の結果を総合すると、伝達物質放出の効率はシナプス前終末の K^+ チャンネル、細胞質のグルタミン酸濃度、及びエクソサイトーシス機構のメカニズムにより調節されていると結論される。