

[別紙2]

## 審査の結果の要旨

氏名 石川太郎

本研究は哺乳動物中枢神経シナプスにおけるシナプス伝達の調節機構を明らかにするために、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 と呼ばれる巨大神経前終末およびそのシナプス後細胞からパッチクランプ法を用いた電気生理学的記録を行ったものであり、下記の結果を得ている。

1. サイクロサイアザイド (CTZ, 100 $\mu$ 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、シナプス前終末の  $K^+$ 電流 ( $I_{pK}$ )、 $Ca^{2+}$ 電流 ( $I_{pCa}$ ) 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された。
2. 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された。

3. 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 受容体によって担われている自発性 EPSC はいずれも著明に増大した。このことから、これらの受容体はいずれも単一シナプス小胞から放出されるグルタミン酸によっては飽和していないことが示された。

以上、本論文は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ことを明らかにした。本研究はこれまで未知の点が多かった哺乳動物中枢神経シナプスにおけるシナプス伝達の調節機構の解明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。