

[ 別紙 2 ]

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 高 橋 祐 二

本研究はヒト神経系における各部位の違い及び神経細胞の個性を分子レベルで検討することを目的に、電位依存性カルシウムチャネル $\alpha 1$ 、 $\beta$ サブユニットの部位別発現カタログを作成し、単一神経細胞における解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 電位依存性カルシウムチャネル(以下 VGCC) $\alpha 1$  サブユニット各サブタイプに共通の塩基配列を用いて degenerate primer を作製し、ヒト大脳、小脳、脊髄、甲状腺、腎臓、脾臓、小腸、精巣、胎盤、子宮より抽出した mRNA を鋳型として、PCR スクリーニングを行った。その結果、これまで骨格筋のみに発現が確認されていた  $\alpha 1S$  が、大脳から得られた。さらに、今回用いた非神経系組織において、これまで報告が確認されていなかった複数のサブタイプが得られた。
2. VGCC  $\alpha 1$ 、 $\beta$ サブユニット各サブタイプに特異的なプライマーを作製し、正常成人剖検脳の前頭葉皮質、後頭葉皮質、海馬、大脳白質、被殻、尾状核、淡蒼球、黒質、小脳皮質、小脳歯状核、脊髄、後根神経節、心臓、筋肉から抽出した total RNA を用いて RT-PCR を行い、各サブタイプの発現パターンを明らかにした。さらに、LightCycler<sup>TM</sup> system を用いた real-time RT-PCR の手法で、得られた結果を定量的に解析した。その結果、各サブタイプの神経系における特徴的な発現パターン及び各部位の発現プロファイルが明らかになった。さらに、これまで実験動物において報告されていたものと異なる発現パターンを呈するサブタイプが認められ、ヒトにお

ける発現の特異性が示唆された。

3. 今回神経系における発現が初めて明らかになった $\alpha 1S$ に関して、Northern blotting, *in situ* hybridization, RT-PCR の手法を用いて、ヒト、ラットの神経系においてその発現パターンを詳細に検討した。その結果、 $\alpha 1S$  は線条体の中型神経細胞に発現していることが明らかになった。さらに、レーザーダイセクターを用いた単一神経細胞の解析システムを構築し、線条体中型神経細胞における $\alpha 1S$  の発現及びリアノジンレセプターとの共発現の可能性に関して検討した。その結果、 $\alpha 1S$  は線条体において GABA 陽性細胞に発現し、リアノジンレセプターと共発現している可能性が示唆された。

以上、本論文は電位依存性カルシウムチャンネル $\alpha 1$ ,  $\beta$ サブユニットのすべてのサブタイプを網羅した、体系的な部位別発現カタログを、ヒトにおいて初めて構築し、さらに単一神経細胞における解析システムを可能にした。本論文はチャンネル分子の神経系における機能の解明及びチャンネル分子に関連する病態の理解において、重要な基盤をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。