

## 論文審査の結果の要旨

氏名 青柳共太

本研究の目的は、開口放出機構の制御機構を詳細に検討することにより神経細胞間情報伝達におけるシナプス前終末由来のシナプス可塑性機構を明らかにすることである。論文提出者はラット副腎髄質クロム親和性細胞種由来の株化細胞である PC12 細胞、および培養小脳神経細胞を用い、タンパク質キナーゼおよび脂質キナーゼによる開口放出の制御機構について解析を行った。

本論文の第一章ではシナプス伝達の可塑性を制御するキナーゼの活性化機構を明らかにするために、神経ペプチドの一種である PACAP (pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide) が神経伝達物質放出に与える影響について研究を行った。その結果、PACAP38 は従来報告されていたよりも低濃度で PC12 細胞に作用し、神経伝達物質放出を増強する新たな作用があることを見いだした。また、低濃度の PACAP 処理による神経伝達物質放出の増強は、従来報告されていた高濃度の PACAP 刺激による神経伝達物質放出機構とは異なる機構によって制御・調節されており、様々なキナーゼが関わっていることを明らかにした。さらに培養小脳神経細胞でも低濃度の PACAP 処理によって神経伝達物質放出が増強されることを見いだし、PACAP が脳のシナプスでも神経伝達物質放出の制御に関わっている可能性を明らかにした。

本論文の第二章では脂質キナーゼによる開口放出の制御・調節機構を明らかにするために生体膜の構成成分であるホスファチジルイノシトールに着目し、ホスファチジルイノシトール-4-リン酸 5-キナーゼによって産生されるホスファチジルイノシトール-4,5-二リン酸 (PI(4,5)P<sub>2</sub>) の細胞膜上における分布と、開口放出部位の相関について研究を行った。その結果、PI(4,5)P<sub>2</sub> は細胞膜上において局所的に高濃度で集積したマイクロドメインを形成することを明らかにした。また、細胞膜上で検出される分泌小胞はシンタキシンおよび PI(4,5)P<sub>2</sub> との共局在により分類できることがわかった。さらにシンタキシンと PI(4,5)P<sub>2</sub> マイクロドメインの両方と共局在する分泌小胞の割合と開口放出能に相関があることを見いだした。これらの結果から、PI(4,5)P<sub>2</sub> マイクロドメインはシンタキシンと共に開口放出

可能な部位を形成する可能性を明らかにした。

以上を要約すると、本研究では開口放出過程に重要な役割を果たす  $PI(4,5)P_2$  が細胞膜上においてマイクロドメインを形成していることを明らかにし、 $PI(4,5)P_2$  マイクロドメインが開口放出可能な部位の形成に関わっている可能性を世界に先駆けて明らかにした。さらに脳の高次機能への関与が示唆されている内在性神経ペプチドである PACAP はタンパク質キナーゼおよび脂質キナーゼを活性化し、開口放出を増強することを明らかにした。この点において神経科学に有意義な貢献をしたものと認められる。よって審査員一同、博士（学術）にふさわしい研究であると判断した。なお、本論文の内容の一部は 2001 年に *Biochemical and Biophysical Research Communications* 誌に論文提出者が筆頭著者となって公表済みである。

論文試験の結果の要旨

論文提出者氏名 青柳 共太

成績 合格

論文提出者に対し、平成16年2月5日、学位論文の内容及び関係事項に関する学識について口頭試験を行った。その結果、論文提出者は専攻学術に関し博士(学術)の学位を授けるに十分な学識を持つものと認め、審査委員全員により合格と判断した。