

[別紙 1]

論文の内容の要旨

論文題目 Visualization of inositol 1,4,5-trisphosphate dynamics in cerebellar Purkinje cells

和訳 小脳プルキンエ細胞におけるイノシトール 1,4,5-三リン酸動態の可視化解析

指導教官 飯野正光 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成 13 年 4 月入学

医学博士課程

機能生物学専攻

氏名 大久保洋平

イノシトール 1,4,5-三リン酸(IP₃)は小脳プルキンエ細胞において重要な細胞機能に關与している。本研究において、我々は緑色蛍光タンパク質で標識したプレクストリンホモロジードメイン、GFP-PHD を用いてプルキンエ細胞内 IP₃ 動態を可視化した。GFP-PHD 遺伝子をシンドビスウイルスを用いてプルキンエ細胞に導入し、共焦点顕微鏡および二光子励起顕微鏡を用いて蛍光画像を取得した。IP₃ 濃度上昇に依存した GFP-PHD の細胞膜から細胞質への移動が、グルタミン酸受容体アゴニスト及び興奮性シナプス入力によって誘発される様子が観察された。

本論文前半部において、我々は代謝型グルタミン酸受容体(mGluR)だけでなく AMPA 受容体の活性化によっても IP₃ 産生が誘発されることを発見した。この AMPA 受容体依存性 IP₃ 産生は P 型電位依存性カルシウムチャネルの阻害によって抑えられ、また脱分極のみで誘発することができたので、P 型電位依存性カルシウムチャネルを介した Ca²⁺流入によって担われていることが明らかになった。さらに、登上線維入力によって誘発されるコ

ンプレックススパイクを連続させることでも IP_3 産生が誘発された。これらの結果はシナプス入力によって誘発され得る AMPA 受容体依存性 IP_3 産生という新規の機構がプルキンエ細胞に存在することを明らかにするものである。

本論文後半部においては、この AMPA 受容体依存性 IP_3 産生の平行線維-プルキンエ細胞間シナプスにおける寄与を調べた。樹状突起細部における平行線維入力依存性の IP_3 産生は mGluR アンタゴニストだけではなく AMPA 受容体アンタゴニストによっても抑えられた。また平行線維依存性 IP_3 産生は G-タンパク質の阻害および BAPTA による細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇の阻害によっても抑えられた。これらの結果は、平行線維-プルキンエ細胞間シナプスでの IP_3 産生には G-タンパク質の活性化と細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇を介して mGluR と AMPA 受容体が協調的に関与することを示し、mGluR と AMPA 受容体の間の密接な相互作用を明らかにするものである。

以上で示された AMPA 受容体の IP_3 産生に対する二種類の関与は、mGluR、G-タンパク質、ホスホリパーゼ C- β を介した従来型の IP_3 産生経路に加えて、新たな IP_3 シグナルの制御機構を明らかにするものである。このことは G-タンパク質と Ca^{2+} という二種類の細胞内シグナルを統合する分子として IP_3 が重要な役割を果たすことを示唆し、平行線維-プルキンエ細胞間シナプスにおける長期抑圧(LTD)を含むプルキンエ細胞内生理現象のより深い理解につながる知見を与えると考えられる。