

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏名 大久保 洋平

本研究は小脳プルキンエ細胞において重要な細胞機能に関与しているイノシトール 1, 4, 5-三リン酸(IP₃)の詳細な動態を明らかにするため、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 動態を可視化したものであり、下記の結果を得ている。

1. 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、共焦点顕微鏡で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投与によって誘発される様子が観察された。
2. 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。
3. 連続した登上線維入力によって IP₃ 産生が誘発されることを、小脳スライス標本内のプルキンエ細胞で IP₃ を可視化することにより明らかにした。AMPA 受容体依存性 IP₃ 産生がシナプス入力によって誘発され得ることが示された。
4. ニ光子励起顕微鏡を用いることで、小脳スライス標本内プルキンエ細胞の樹状突起細部において IP₃ を可視化することが可能になった。これにより、平行線維入力依存性の IP₃ 産生を可視化することに成功した。
5. 平行線維入力依存性の IP₃ 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 IP₃ 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。本研究は 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、学位の授与に値するものと考えられる。