[別紙 1]

論文の内容の要旨

論文題目　Rapid Ca^{2+}-dependent increase in oxygen consumption by mitochondria in single mammalian central neurons

和訳　哺乳動物単一中枢神経細胞のミトコンドリアによる速い Ca^{2+}依存性酸素消費

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 9 年 4 月進学

医学博士課程

機能生物学専攻

氏名　　早川　泰之

要旨

神経細胞における活動依存的酸素消費は、内因性光学信号の測定や fMRI で検出される initial dip の現象から活動開始後1秒以内に増大すると考えられる。しかし、この迅速な酸素消費の細胞レベルのメカニズムはまだ明らかにされていない。そこで、我々は二光子励起イメージング法を用いて、単一神経細胞における活動依存的なミトコンドリアの応答を解析した。まず、我々はマウス小脳培養プルキンエ細胞に、親和性の異なる二種類の Ca^{2+} 蛍光指示薬 fura-2、もしくは fura-2FF、及びミトコンドリア膜電位を反映する蛍光指示薬 TMRM を同時に負荷することにより、細胞内 Ca^{2+}濃度分布とミトコンドリア膜電位の変化を同時に可視化解析することを可能とした。その結果、神経細胞への脱分極刺激により生じた細胞内 Ca^{2+}濃度上昇が 15μM を越えると、ミトコンドリア膜電位の脱分極が引き起こされることが判った。このとき、NAD(P)H 由来の自家蛍光イメージングから、脱分極刺激

によりミトコンドリア呼吸鎖の NAD(P)H の酸化が促進されることが明らかとなった。これらの結果から、NAD(P)H の酸化はミトコンドリアの膜に存在するカルシウムユニポーターを介した Ca^{2+}依存的なミトコドリアの脱分極によって促進することを示唆している。さらに、微小酸素電極を用いて、培養プルキンエ細胞の細胞体近傍における酸素分圧を計測したところ、脱分極後 0.2 秒以内に酸素消費が急激に増大することが明らかになった。この速い酸素消費の増大は細胞内 Ca^{2+}濃度上昇を必要としていた。このように、我々は、哺乳動物中枢神経細胞において、ミトコンドリア脱分極を介して Ca^{2+}依存的に酸素消費が増大することの実証に成功した。この過程は細胞内 ATP 濃度の恒常的維持のための迅速なフィードフォワード機構として機能しているものと考えられる。