「別紙2」

審査の結果の要旨

氏名：熊澤　紀子

本研究は、海馬 CA1 領域においてシナプス前終末に発現する 2 つの機能分子に注目し、それらのシナプス可塑性の誘導閾値の修飾や発現における役割に関する研究を行った。海馬急性スライスを用いた細胞外記録法にて、様々なシナプス可塑性における 2 つの機能分子の役割について検討を行ったものであり、下記の結果を得ている。

1.　AP-μ3B 欠損マウス：

アダプタータンパク質（AP）複合体の一種である AP-3B は、神経特異的に発現し、神経伝達物質の分泌やエンドサイトーシス経路の小胞輸送に関与しているといわれている。本研究では AP-3B のサブユニットの 1 つである μ3B を欠損するマウスを解析し、この変異型マウスでみられる GABA の放出量の低下が海馬 CA1 領域の長期増強現象（LTP: Long-term potentiation）にどのような影響を及ぼすのかを検討した。その結果、LTP の誘導条件が相対的に強い場合には、$GABA_A$ 受容体のアンタゴニストであるピクロトキシン（PTX）の有無にかかわらず両遺伝子型で同様の LTP が誘導された。しかし、野生型マウスでは PTX が存在しないときに LTP が誘導されないような弱い誘導条件においても、変異型マウスでは LTP が誘導された。一方、この表現型は PTX 存在下では認められなかった。したがって比較的弱い誘導条件による LTP の誘導においては、変異型マウスでは GABA による抑制効果が減弱したことにより、LTP が誘導されたものと考えられる。

これらの結果より、GABA を含有するシナプス小胞形成と興奮時の GABA 放出に関与する μ3B は、シナプス可塑性の誘導閾値の修飾や発現においても重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

2.　海馬CA3領域特異的TrkB受容体欠損マウス:

A)　シナプス前部に存在するTrkB受容体の役割を明らかにするために、海馬CA1領域へ求心性線維を投射する海馬CA3領域特異的に*trkB*遺伝子を欠損させた成体マウスの海馬スライスを用い、電気生理学的解析を行った。はじめに、神経伝達物質の放出確率とシナプス前性の短期可塑性について検討するために、N-methyl-D-aspartate (NMDA) 受容体のアンタゴニストであるD-2-amino-5-phosphonovaleric acid (D-APV)の

存在下で、2発刺激促通（PPF: paired-pulse facilitation）および低頻度刺激（LFS: low-frequency facilitation; 5Hz）に対する応答について検討を行った。その結果、いずれにおいても両遺伝子型間で差はみられなかった。また、D-APVの存在下でより強い刺激条件（100Hz/1s）により誘導されるシナプス前性の短期可塑性の1つであるテタヌス後増強（PTP: post-tetanic potentiation）について検討を行ったところ、変異型マウスにおいてテタヌス後０分から２分にかけて、PTPの減弱がみられた。さらに、N-タイプカルシウムチャネル阻害剤の存在下でPTPを検討したところ、コントロールマウスでは非存在下に比べて有意な減弱がみられたが、変異型マウスでは阻害剤の存在下および非存在下でPTPに差はみられなかった。

これらの結果より、シナプス前性TrkB受容体は、より強い誘導条件（100Hz）によりシナプス前終末への大量のCa^{2+}の流入されるような短期可塑性であるPTPに関与し、そのPTPにおけるN-タイプカルシウムチャネル依存性成分に必要であることが示唆された。

B) D-APV の非存在下で LTP におけるシナプス前部に存在する TrkB 受容体の役割についても検討を行った。はじめに、PTP と同じ誘導条件（100Hz/1s）で検討したところ、変異型マウスにおいてシナプス増強がやや減弱する傾向がみられたが、有意な差はみられなかった。また、200Hz/200ms、10 回というより BDNF が放出されやすいと報告されている誘導条件で LTP を誘導したところ、変異型マウスでシナプス増強の有意な低下がテタヌス後２０分まで見られた。さらに、200Hz/200ms、1 回という誘導条件で LTP を誘導したところ、変異型マウスにおいて LTP の減弱がテタヌス後 60 分までみられた。

これらの結果から、シナプス前終末に存在する TrkB 受容体は、より高頻度の 1 回の誘導条件で誘導される LTP の発現において重要な役割を果たしていることが明らかになった。

以上、本論文は、マウス海馬 CA1 領域におけるシナプス可塑性において、いままでよく分かっていなかったシナプス前終末に存在する 2 つの機能分子がシナプス可塑性において重要な役割を果たしていることを明らかにした。本研究は、シナプス可塑性の分子メカニズムの解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。