

[別紙 1]

## 論 文 の 内 容 の 要 旨

論文題名 Developmental Changes in the Presynaptic Proteins Involved in Transmitter Release Probability

和訳 伝達物質放出確率に関与するシナプス前末端タンパク質の生後発達変化

指導教官 高橋智幸 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成 14 年 4 月入学

医学博士課程

機能生物学専攻

氏名 木村昌弘

シナプス前終末端には様々なタンパク質が発現しており、様々な機構によりシナプス伝達機能を調節していると考えられる。脳幹の聴覚中継核、台形体内側核 (MNTB) の Calyx of Held シナプス前末端におけるアデノシン A<sub>1</sub> 受容体およびカルシウム結合タンパク質カルレチニンの生後発達に伴う発現変化と、それによるシナプス伝達調節機構の機能的変化について研究を行った。

幼若ラット (日齢 5-7 日) 脳幹スライスの Calyx-MNTB シナプスにおいて、興奮性シナプス後電流 (EPSC) はアデノシンもしくは A<sub>1</sub> 受容体アゴニスト

CPA 投与により濃度依存的、かつ可逆的に抑制された。アデノシンによる EPSC の振幅の減衰は変動係数 (c.v.= s.d./mean) の増大を伴い、自発性微小(m)EPSC の振幅を変化させないことからシナプス前性と推定された。アデノシンはシナプス前終末端から直接記録したカルシウムチャンネル電流 ( $I_{pca}$ ) を抑制し、カリウムチャンネル電流を抑制しなかった。シナプス前終末端後細胞から同時記録を行って  $I_{pca}$  によって誘発される EPSC を記録してアデノシンの効果を検討した結果、アデノシンによる EPSC の抑制は  $I_{pca}$  の抑制によって定量的に説明できることが明らかとなった。アデノシンによる EPSC の抑制効果は生後 1 週齢のラットでは顕著に認められたが生後発達に伴って減弱した。また免疫組織化学および western blot によってアデノシン  $A_1$  受容体の発現が生後発達に伴って減少することが明らかとなった。未成熟のシナプスは伝達物質放出確率が高く、繰り返し刺激によってシナプス小胞が枯渇しやすいことが知られている。アデノシン  $A_1$  受容体は未成熟のシナプスの伝達物質放出確率を抑制することによって、シナプス伝達の安定性に寄与するものと考えられる。

カルシウム結合タンパク質カルレチニンは生後発達に伴い Calyx of Held における発現が増大することが免疫組織化学的に明らかになった。カルレチニンはシナプス前終末において日齢 12 日以降より発現が検出された。発達を伴うカルレチニンの増大がシナプス機能におよぼす効果を明らかにするためにカルレチニンノックアウト (CRKO) マウスと野生型 (WT) マウスの Calyx of Held シナプス後細胞から EPSC を記録して比較を行った。WT マウスでは生後 10-12 日から 18-21 日にかけて放出確率が著しく減衰したが、CRKO マウスでは有意な放出確率の減衰は見られなかった。また生後 21 日の CRKO マウスの Calyx of Held は高頻度入力に対するシナプス伝達の追従性が損なわれており、300Hz 以上で後細胞活動電位の欠落が認められた。一方 WT マウスでは幼弱期はシナプス

伝達の追従性が悪いが、生後 21 日では 500Hz 入力に完全に追従した。生後 21 日 CRKO マウスの異常な高確率伝達はカルレチニンと同程度のカルシウム結合速度もつ BAPTA をシナプス前終末へ注入することによって救済された。以上の結果は生後発達に伴うカルレチニンの神経終末端における発現が、シナプス伝達確率の低下をもたらし、シナプス小胞の枯渇抑制を介して高頻度入力に対する伝達効率を上昇させることを示唆する。カルレチニンは放出確率の制御を介して高頻度入力に対する高信頼性のシナプス伝達に貢献すると結論される。