

[別紙2]

審査の結果の要旨

氏名 木村昌弘

本研究は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機能を明らかにするために、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 A₁ 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解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 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 A₁ 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。
2. 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ネル電流 (I_{pca}) を抑制し、カリウムチャ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。
3. 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

A₁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。

4. 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。
5. 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。
6. 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。
7. 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、本論文はシナプス前末端においてアデノシン A₁ 受容体およびカルレチニンが伝達物質放出確率の生後発達変化に関与することを明らかにした。本研究は哺乳類中枢神経系でのシナプス放出機構の理解に貢献していると考えられ、学位の授与に値すると考えられる。