

[別紙2]

## 審査の結果の要旨

氏名 中村行宏

本研究は、脳幹の聴覚中継シナプス calyx of Held 前末端において、生後発達に伴って生じる活動電位波形の調節機構を明らかにするため、パッチクランプ法を用いた電気生理学的記録を行ったものであり、下記の結果を得ている。

- 1, 電位固定法によってシナプス前末端より電位依存性  $\text{Na}^+$ 電流を記録した。電位依存性  $\text{Na}^+$ 電流は生後 7-15 日にかけて、不活性化時間が短縮することが示された。
- 2, 電位固定法によってシナプス前末端より電位依存性  $\text{K}^+$ 電流を記録した。電位依存性  $\text{K}^+$ 電流は、生後 7-15 日にかけて、電流密度が増加するとともに、活性化時間が短縮することが示された。同様の結果は、シナプス前末端膜より単離したパッチ膜においても確認された。
- 3, 薬理学的手法により、calyx of Held 前末端の電流を構成する  $\text{K}^+$ 電流の各成分を分離した。生後 7-15 日にかけて、TEA (1 mM) 感受性の  $\text{Kv3}$  電流と margatoxin 感受性の  $\text{Kv1}$  電流は、比率を変えず電流密度が増加するとともに、活性化時間も短縮することが示された。一方、iberiotoxin 感受性の BK 電流はこの期間を通じて有意な変化は見られなかった。
- 4, 活動電位に対する  $\text{K}^+$ 電流阻害薬の作用を検討した。TEA (1 mM) は生後 7, 15 日とも活動電位の幅を延長することから、 $\text{Kv3}$  電流が発達の期間を通じて活動電位を制御している。また  $\text{K}^+$ 電流を全て阻害した条件下で誘発した  $\text{Na}^+$ 電流のみによって生じる活動電位幅が生後 7, 14 日で異なることから、 $\text{Na}^+$ 電流の生後変化が活動電位波形を制御している可能性が示された。活動電位のシミュレーションによれば、 $\text{K}^+$ 電流密

度の増加・活性化キネティクスの短縮、Na<sup>+</sup>電流不活性化キネティクス短縮すべての要因が活動電位幅の短縮に貢献しているが、中でも K<sup>+</sup>電流活性化キネティクスの短縮の貢献が最大である可能性が示された。

- 5、 シナプス前末端に弱い持続的脱分極を与えたところ、生後7日では脱分極期間中、活動電位が連続して発火したが、生後14日では発火は初期の数発にとどまった。Margatoxin は生後7日では有意な作用を示さなかったが、生後14日では活動電位の発火数を増加させた。発達に伴う Kv1 電流の増加は神経前終末の興奮性を安定化し、異常発火の抑制に貢献していることが示された。
- 6、 入力線維を 400Hz で刺激したところ、生後14日前末端では活動電位の発火が入力刺激に完全に追従したが、生後7日では活動電位の欠落が認められた。TEA (1 mM) を投与したところ、活動電位の追従性は生後7日では変化しなかったが、生後14日では活動電位発火が顕著に欠落した。発達に伴う Kv3 電流の増加が高頻度入力に対する高信頼性の活動電位発火の確立に貢献することが示された。

以上、本論文はラット脳幹の巨大シナプス calyx of Held において、シナプス前電流の生後発達変化を記録し、この変化が活動電位波形短縮の要因であることを明らかにした。本研究は、これまで不明であった哺乳動物中枢シナプス前末端における、特に K<sup>+</sup>電流の生後発達とその機能的意義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。