

審査の結果の要旨

古谷 和春

本論文は、成熟脳においてシナプス機能が維持される機構を明らかにするため、神経活動と細胞内シグナル伝達系の果たす役割を、分子生物学的手法、薬理学的手法、および電気生理学的手法を用い、小脳平行線維—プルキンエ細胞シナプスをモデルとして解析し、下記の結果を得ている。

1. IP_3 特異的な脱リン酸化酵素である IP_3 5-phosphatase を、シンドビスウイルスベクターを用いてマウス小脳のプルキンエ細胞に過剰発現させることにより、生体内において、プルキンエ細胞選択的な IP_3 シグナリングの阻害を行なった。その結果、 IP_3 5-phosphatase 発現プルキンエ細胞において、平行線維入力に応じたシナプス応答が有意に減弱し、シナプス機能の低下が示唆された。
2. IP_3 5-phosphatase 発現プルキンエ細胞における平行線維シナプス応答の減弱の機序を解析した結果、シナプス後膜側の機能変化を示唆する結果は得られなかったが、シナプス前終末機能の低下を示唆する、平行線維 EPSC の paired-pulse ratio および coefficient of variation の有意な増大が認められた。
3. IP_3 シグナリングの上流の神経活動を明らかにするため、グルタミン酸受容体拮抗薬を含んだ有機樹脂ポリマーの薄片をマウス小脳皮質表面上に埋め込み、*in vivo* における神経活動の慢性阻害を行なった。代謝型グルタミン酸受容体 (mGluR) 拮抗薬の慢性投与後、 IP_3 5-phosphatase を発現した際と同様の平行線維機能低下が認められた。さらに、同様の方法により NMDA 型グルタミン酸受容体拮抗薬を投与し、平行線維の細胞体である顆粒細胞の発火に必要な NMDA 型グルタミン酸受容体入力を抑制することによっても、平行線維機能が低下することが明らかとなった。
4. IP_3 シグナリングの下流でシナプス機能維持機構に関与する因子の同定を試み、探索の結果、脳由来神経栄養因子 (Brain-derived neurotrophic factor, BDNF) の中和抗体を慢性投与し、BDNF の働きを阻害することにより、 IP_3 5-phosphatase を発現した際と同様の平行線維機能低下が起こることを見いだした。
5. IP_3 5-phosphatase 発現によるシナプス前終末機能低下は外因的な BDNF の投与により完全に救助され、 IP_3 5-phosphatase 発現細胞において、BDNF の中和抗体の投与は更なる作用を示さないことから、BDNF が IP_3 シグナリングの下流でシナプス維持機構に関与していると考えられた。

本論文は、成熟小脳平行線維—プルキンエ細胞シナプスの機能が活動依存的に維持されていることを明らかにし、その分子機構を示した。平行線維の活動は、神経終末からのグルタミン酸放出を起こし、プルキンエ細胞において mGluR 依存的に IP_3 シグナリングを活性化する。このようなシナプスにおける順行性の情報伝達は、引き続き BDNF の働きを活性化し、今度は逆行性に平行線維終末に伝えられ、シナプス機能を維持している。このようなフィードバック制御はシナプスを使い続けているかぎり起こり、シナプス機能の維持を達成していると考えられる。本論文は、成熟脳におけるシナプス維持機構の解明という未解決な問題に光を当て、また mGluR を介したシグナル伝達系の生理的意義の理解を進めるものであると考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。