

論文の内容の要旨

論文題目: 4-Chloro-*m*-cresol, an activator of ryanodine receptors, inhibits voltage-gated K⁺ channels at the rat calyx of Held

和訳: リアノジン受容体活性化薬 4-CmC は、ラット脳幹シナプス前末端の電位依存性カリウムチャネルを阻害する

指導教官 高橋智幸 教授

東京大学大学院医学系研究科

2002年4月 進学

医学博士課程 機能生物学専攻

鈴木大介

各種筋細胞が刺激されると、筋小胞体中のカルシウムイオンが、リアノジン受容体を介して細胞質に放出され、筋収縮を引き起こされる。筋細胞同様、神経細胞にも細胞内カルシウムストア及びリアノジン受容体が存在するが、その機能は未知の点が多い。そこで私は、幼若ラット脳幹の急性スライス標本作製し、リアノジン受容体活性化薬である 4-クロロ-*m*-クレゾール (4-CmC) やリアノジンを灌流投与し、神経細胞内のカルシウムストア及びリアノジン受容体の機能解明を試みた。また、1型から3型まであるリアノジン受容体の何型が発現しているのか、またどこに発現しているのかを、免疫染色により解析した。

上オリーブ複合体の台形体内側核に存在する、calyx of Held シナプスの後細胞をホールセルパッチクランプ法を用いて電位固定し、シナプス前末端を電気刺激して興奮性シナプス後電流 (excitatory postsynaptic current, EPSC) を記録したところ、4-CmC により振幅が濃度依存的に増大し、50%効果濃度は 116 μM であった。2発刺激により得られた paired-pulse ratio は減少し、また自発性の微小興奮性シナプス後電流 (miniature EPSC, mEPSC) の頻度が上昇した。したがって、4-CmC による EPSC 振幅増大は、シナプス前末端から放出された神経伝達物質放出量の増大によることが示唆された。

その機構を詳細に調べるため、シナプス前末端をホールセルパッチクランプ法を用いて電流固定し、活動電位を誘発させたところ、4-CmC により再分極時間が遅延した。シナプス前末端より記録した電位依存性カリウム電流は、4-CmC により抑制されたが、カルシウム電流は変化しなかった。また、前末端のカルシウム電流により誘発した EPSC も、4-CmC の影響を受けなかった。免疫染色により、シナプス前末端に 3 型リアノジン受容体が発現していることを見出したが、リアノジン投与により EPSC の振幅は変化せず、また 4-CmC

の EPSC 振幅増大効果も抑制しなかった。これらの結果から、4-CmC による刺激誘発性の神経伝達物質放出量の増加は、シナプス前末端に存在する電位依存性カリウムチャネルの抑制によるものである、と結論付けた。

一方、4-CmC により引き起こされる mEPSC 頻度上昇は、リアノジン投与により顕著に抑制された。リアノジン単独投与では、mEPSC 頻度が変化しないため更なる検討が必要ではあるが、自発性の神経伝達物質放出量の増加には、細胞内カルシウムストア及びリアノジン受容体の関与が示唆された。