

[課程一2]

審査の結果の要旨

氏名 鈴木 大介

細胞内カルシウムストア及びリアノジン受容体の機能は、筋細胞ではほぼ明らかになっているが、中枢神経系の情報伝達過程においては未解明の部分が多い。本研究は、幼若ラットの脳幹急性スライス標本に、リアノジン受容体活性化薬 4-chloro-*m*-cresol (4-CmC) やリアノジンを灌流投与し、上オリーブ複合体の台形体内側核に存在する calyx of Held シナプスの前末端及び後細胞から種々の電流・電位を記録、また免疫染色を行い、下記の結果を得た。電気生理学実験は、全て室温で行った。

1. ホールセルパッチクランプ法を用い、calyx of Held シナプス後細胞を電位固定し、双極電極で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た。
2. EPSC 振幅に対する 4-CmC の 50%効果濃度は、116 μ M であった。
3. 50 ミリ秒の刺激間隔で、EPSC を 2 回誘発させることにより得られた paired-pulse ratio は、4-CmC により有意に減少した。
4. 電気刺激から EPSC 発生までの時間が、4-CmC により有意に遅延した。
5. 刺激部位から記録部位までの神経伝導速度を、双極電極でシナプス前末端に誘発させた活動電位で評価したところ、4-CmC により有意な変化は生じなかった。
6. ホールセルパッチクランプ法を用い、calyx of Held シナプス前末端を電流固定し、電流注入で活動電位を誘発させたところ、4-CmC により再分極時間が有意に遅延した。活動電位の振幅や立ち上がり時間、静止膜電位に有意な変化は生じなかった。
7. 電気刺激から EPSC 発生までの時間の遅延は、活動電位の再分極時間の遅延で説明がつくことを、シナプス前末端と後細胞からの同時記録で確認した。
8. Calyx of Held 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 により有意に抑制された。
9. Calyx of Held シナプス前末端より記録した電位依存性カルシウム電流は、4-CmC により有意な変化は生じなかった。
10. Calyx of Held シナプス前末端のカルシウム電流により誘発した EPSC は、振幅・波形共に 4-CmC による有意な変化は生じなかった。
11. 免疫染色により、calyx of Held シナプス前末端に 3 型リアノジン受容体が強く発現していることを見出した。

12. リアノジン (20 μM) 単独投与では EPSC 振幅は変化せず、また 4-CmC により引き起こされる EPSC 振幅上昇も、リアノジンにより抑制されなかった。
13. 自発性の微小興奮性シナプス後電流 (miniature EPSC、mEPSC) を記録したところ、4-CmC (500 μM) により mEPSC 頻度は有意に上昇した。mEPSC 振幅に有意な変化は生じなかった。
14. リアノジン (20 μM) 単独投与では、mEPSC 頻度に有意な変化は生じなかった。
15. リアノジンを 20 分以上投与した状態では、4-CmC による mEPSC 頻度上昇が有意に抑制された。

以上本研究により、calyx of Held シナプスに存在する細胞内カルシウムストア及びリアノジン受容体は、刺激誘発性の神経伝達物質放出過程には関与していないが、自発性の神経伝達物質放出過程には関与していることが示唆された。本研究は、中枢神経系における細胞内カルシウムストア及びリアノジン受容体の機能全容解明の一助となり、またリアノジン受容体を特異的に活性化するとされていた 4-CmC が、電位依存性カリウムチャンネルを強力に阻害することを明らかにし、学位の授与に値するものと考えられる。