

審査の結果の要旨

氏名 中村美智子

海馬苔状線維シナプスは、連続刺激により著しく大きくシナプス伝達が増強することが知られており、この特性がその機能に重要な役割を果たしていると考えられている。本研究は、連続刺激により、シナプス伝達だけでなく fiber volley の大きさも増大する現象 (fiber volley facilitation) を新しく発見、着目し、そのメカニズムの解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. マウス海馬苔状線維が形態学的に成熟した状態になると報告されている、生後 30 日 (P30) のマウス海馬において、25Hz 5 発の連続電気刺激を苔状線維に与えると、10 倍以上の活動依存的なシナプス伝達の増強が示された。本研究においても、以前から知られている苔状線維シナプスの顕著な frequency facilitation を再現することができることを確認された。
2. 幼若期生後 10 日 (P10) のマウス海馬において、25Hz 5 発の連続電気刺激を苔状線維に与えると、10 倍近い活動依存的なシナプス伝達の増強とともに、fiber volley の大きさも刺激依存的な増大を示した。この現象を fiber volley facilitation と命名し、発達変化を詳細に調べたところ、発達とともに徐々に facilitation の程度は小さくなり、P30 までに消失する現象であることが示された。
3. 幼若期にのみ観察される fiber volley facilitation は、電位依存性カルシウムチャネルブロッカーであるカドミウム存在下で完全に抑制されたため、刺激によって放出される伝達物質の関与が示された。次に苔状線維から放出される glutamate を抑制する、DCG-IV 存在下で検討したが、全く効果が認められなかった。一方、GABA_A 受容体ブロッカー (SR95531, bicuculline, picrotoxin) 存在下で、fiber volley facilitation は大きく抑制されることが示された。
4. GABA_A 受容体活性化により苔状線維の興奮性が増大するかどうかを検討する目的で、GABA_A 受容体アゴニスト (muscimol) を投与したところ、fiber volley と EPSP は同程度増大した。GABA_A 受容体活性化による興奮性作用は、発達とともに減少する傾向はあるが P30 においても認められた。

5. GABA_A 受容体アゴニスト、アンタゴニストの局所投与により、苔状線維の興奮性を調節する機能的な GABA_A 受容体は、刺激電極設置付近の axonal GABA_A 受容体であることが示された。

6. 電位依存性色素 (Di-8-ANEPPS) を用い、苔状線維の電位変化を観察する手法・プレシナプスイメージングにより、25Hz、5 発刺激を与えた際の苔状線維の電位変化を直接測定した。その結果、電気生理学的解析によって示された結果と一致して、連続刺激により苔状線維の膜興奮性が增大することが確認された。

7. 海馬のインターニューロンを選択的に抑制する Enkephalin を投与すると、fiber volley facilitation が大きく抑制されたため、axonal GABA_A 受容体は、少なくとも部分的にはインターニューロンによって放出される GABA によって活性化されることが示された。

以上、本論文は、海馬苔状線維シナプスにおいて幼若期にのみ観察される fiber volley facilitation を詳細に検討し、活動依存的な刺激を与えると、インターニューロンより放出される GABA によって苔状線維上 axonal GABA_A 受容体が活性化され興奮性が増大するため fiber volley facilitation が引き起こされることを明らかにした。本研究は、幼若期には軸索の興奮性調節も部分的にはシナプス伝達増強に寄与するという新しいメカニズムを提唱し、また、その機能が不明であった axonal GABA_A 受容体の生理的役割を示唆しており、発達期海馬苔状線維シナプスの機能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。