

審査の結果の要旨

氏名 森本 卓行

本研究は脳におけるシナプス伝達において重要な役割を担うと考えられている短期可塑性について、海馬 CA3 領域から伸びる Schaffer 側枝と CA1 領域の錐体細胞とのシナプス (以下 CA3-CA1 シナプス) を実験系として、電気生理学的方法により解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 電気刺激した際の Schaffer 側枝の興奮性の指標 (入力の指標) となる fiber volley を立ち上がりの傾きの最大値を取ることによって定量化し、シナプス応答 (出力の指標) と同時に観察する方法を提案した。CA3-CA1 シナプスで 5Hz 3min 刺激を加える実験では、5Hz 3min 刺激中に fiber volley は減弱していき、5Hz 3min 刺激終了後数分のタイムスケールで回復していくことが示唆された。一方、シナプス応答は 5Hz 3min 刺激中に一旦増強した後減弱していき、5Hz 3min 刺激後一旦ベースライン付近まで、応答が増加し、再び十数分のタイムスケールにわたって減弱した。5Hz 3min 刺激後には fiber volley が回復していないにもかかわらずシナプス応答が増加しており、短期増強が起きている可能性が示唆された。
2. GABA<sub>A</sub> 受容体の阻害剤であるピクロトキシン (100  $\mu$ M) や NMDA 受容体の阻害剤である D-APV (50  $\mu$ M) の投与によって、5Hz 3min 刺激後のシナプス応答に顕著な影響は観察されなかった。5Hz 3min 刺激後の応答の増加に GABA<sub>A</sub> 受容体や NMDA 受容体を通る電流は寄与して可能性が低いと示唆された。
3. シナプス前部からの小胞放出確率の指標である paired pulse ratio (PPR) の変化を観察したところ、100Hz 1s の高頻度刺激後と 5Hz 3min の低頻度刺激後で定量的に似た PPR の変化が観察された。高頻度刺激後と低頻度刺激後で、共通するシナプス前性の変化が起きている可能性が示唆された。
4. 100Hz 1s 後の短期増強 (post-tetanic potentiation: PTP) と 5Hz 3min 刺激後のシナプス応答に関して、PKC の阻害剤 Ro-31-8425 (10  $\mu$ M) 、BIS I (8  $\mu$ M) 、PKA の阻害剤 H-89 (10  $\mu$ M) 、CaMKII の阻害剤 kn-93 (5  $\mu$ M) 、myosin light-chain kinase 阻害剤 ML-7 (10  $\mu$ M) の投与による顕著な影響は観察されなかった。上記の酵素が PTP 及び 5Hz 3min 刺激後の応答の増加に寄与している可能性は低いと考えられた。
5. PTP と 5Hz 3min 刺激後のシナプス応答に関して、thapsigargin (3  $\mu$ M) の投与によって顕著な影響は観察されなかった。このことから、小胞体からのカルシウム流出が PTP 及び 5Hz 3min 刺激後の応答の増加に寄与している可能性は低いと考えられるが、この点に関してはさらなる追求が必要である。

6. PTP と 5Hz 3min 刺激後のシナプス応答に関して、mitochondrial  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  exchanger (mNCX) 阻害剤  $\text{TPP}^+$  ( $1\ \mu\text{M}$ ) により PTP 及び 5Hz 3min 刺激後の PPR に有意な差が観察された。一方で、ミトコンドリアからのカルシウムの他の流出経路である permeability transition に関わる分子 cyclophilin D を CA3 特異的に KO したマウスでは PTP 及び 5Hz 3min 刺激後の PPR に顕著な差が見られなかった。ミトコンドリアから流出するカルシウム、特に mNCX を通って流出するカルシウムが高頻度刺激後および低頻度刺激後に短期可塑性に関与している可能性が示唆された。

以上、本論文は CA3-CA1 シナプスにおいて、低頻度刺激後にも高頻度刺激後と同様の PPR の変化が起こることを示し、ミトコンドリアからのカルシウム流出が高頻度刺激後及び低頻度刺激後の短期可塑性に関与している可能性を示した。本研究は CA3-CA1 シナプスでのシナプス前性の短期可塑性に新たな知見を加えたもので、学位の授与に値するものと考えられる。