

## [課程-2]

### 審査の結果の要旨

氏名 谷村 あさみ

本研究は、(1) 中枢神経系において逆行性シナプス伝達抑圧を担う内因性カンナビノイドを同定するために、内因性カンナビノイドの一つである2-アラキドノイルグリセロール (2-AG) の産生酵素、ジアシルグリセロールリパーゼ (DGL) の遺伝子改変マウス (DGL $\alpha$  ノックアウトマウス、DGL $\beta$  ノックアウトマウス) の解析と、(2) 小脳において、2-AG 分解酵素であるモノアシルグリセロールリパーゼ (MGL) による逆行性シナプス伝達抑圧の制御機構を明らかにするために、MGL 遺伝子改変マウスの解析を行ったものであり、下記の結果を得ている。

#### (1)

1、HPLC 法によって小脳、海馬、線条体の 2-AG 量を計測した結果、DGL $\alpha$  ノックアウトマウスでは、野生型に較べて 2-AG 量が減少しているのに対し、DGL $\beta$  ノックアウトマウスでは、野生型と差がなかった。このことから、2-AG の産生に関与する分子は DGL $\alpha$  であることが分かった。

2、電気生理学的解析によって、内因性カンナビノイドによるシナプス修飾について調べた。その結果、小脳、海馬、線条体において、DGL $\alpha$  ノックアウトマウスでは、野生型で逆行性シナプス伝達抑圧が誘発される刺激を加えても、逆行性シナプス伝達抑圧は観察されなかった。

3、2と同様に DGL $\beta$  ノックアウトマウスについて逆行性シナプス伝達抑圧が観察されるかを調べた。その結果、DGL $\beta$  ノックアウトマウスでは、野生型と同様に逆行性シナプス伝達抑圧が誘発された。2、3の結果から、逆行性シナプス伝達抑圧を担う分子は、DGL $\alpha$  によって産生される 2-AG であることが分かった。

#### (2)

1、免疫染色、免疫電子顕微鏡による解析により、小脳皮質において、MGL は

平行線維終末に最も強く、またバーグマングリアに弱く発現しており、登上線維終末や抑制性終末には発現していないことが分かった。

2、顆粒細胞特異的 MGL ノックアウトマウスの電気生理学的解析により、顆粒細胞特異的 MGL ノックアウトマウスでは、登上線維シナプスにおける逆行性シナプス伝達抑圧が野生型よりも遷延していることが分かった。このことから、登上線維シナプスにおける逆行性シナプス伝達抑圧に、平行線維終末に局在する MGL が関与することが分かった。

3、小脳スライス培養の系を用いて、レンチウイルスによって MGL ノックアウトマウスのバーグマングリアに MGL を強制発現させ、逆行性シナプス伝達抑圧の持続時間を調べた。その結果、バーグマングリアに MGL を強制発現させたスライスでは、逆行性シナプス伝達抑圧の持続時間が短くなっていることが分かった。このことから、逆行性シナプス伝達抑圧が起きているシナプス周囲に存在する MGL がシナプス非選択的に逆行性シナプス伝達抑圧を調節することが分かった。

4、抑制性シナプスには、小脳プルキンエ細胞の遠位樹状突起にシナプスを形成するもの（分子層でシナプスを形成する）と細胞体にシナプスを形成するもの（プルキンエ細胞層でシナプスを形成する）がある。MGL は平行線維終末に強く発現していることから、分子層に最も強く MGL は存在する。シナプスを形成している部位周囲の MGL の有無によって、逆行性シナプス伝達抑圧は影響を受けるかについて電気生理学的解析を用いて調べた。その結果、分子層に形成されるシナプスで起きる逆行性シナプス伝達抑圧は、MGL ノックアウトマウスで野生型よりも遷延しているのに対し、細胞体に形成されるシナプスで起きる逆行性シナプス伝達抑圧は野生型と MGL ノックアウトマウス間で差がなかった。

2、3、4の結果から、小脳において逆行性シナプス伝達抑圧は MGL による 2-AG のシナプス非選択的な分解によって調節されることが分かった。

以上、本研究によって、逆行性シナプス伝達抑圧を担う分子が 2-AG であること、また逆行性シナプス伝達抑圧は、MGL によるシナプス非選択的な 2-AG の分解によって調節されることが明らかになった。本研究は、内因性カンナビノイドによるシナプス修飾機構の解明に大きな貢献をなすものであり、学位の授与に値するものと考えられる。