

【別紙2】

審査の結果の要旨

氏名 久保田 淳

本論文は、大脳皮質の代表的な特性である経験依存的可塑性の幼若期（生後2週齢付近）以降でのメカニズムを明らかにするため、ヒゲ除去による感覚入力遮断の影響をマウス体性感覚野バレル皮質の第4層—第2/3層シナプスにおいて電気生理学的手法、薬理学的手法、および分子生物学的手法を用い解析したものであり、下記の結果を得ている。

1. 生後18日齢から20日齢のマウスの片側のヒゲをすべて除去し、5日から7日経過した際の第4層—第2/3層シナプスへの影響を解析した。その結果、paired-pulse ratio の有意な増大、およびNMDA型グルタミン酸受容体のアンタゴニストであるMK-801を用いた使用依存的結合速度の有意な低下が認められ、前シナプスからの伝達物質放出確率低下が示唆された。一方、シナプス後膜側の機能変化を示唆する結果は得られなかった。
2. 生後12日齢から14日齢のマウスにおいてもヒゲ除去の結果、伝達物質放出確率低下が誘発され、既報の通りカナビノイド受容体（CB1R）依存的であることを確認した。一方、生後18日齢から20日齢のマウスではCB1R非依存的に伝達物質放出確率が低下した。このことは、成長とともに可塑性機構が変化すること、さらに成熟期特異的な機構が存在することを示唆する。
3. 我々の研究室の以前の報告から着想を得て、シナプス後膜の代謝型グルタミン酸受容体（mGluR）の寄与に注目した。生後18日齢から20日齢でヒゲ除去を施したマウスにmGluR5のポジティブアロステリックモジュレータを投与し活性を増強することで、放出確率の低下が完全に回復されることを示した。また、ヒゲ除去していないマウスにmGluRのアンタゴニストを投与することで、ヒゲ除去と同様の放出確率の低下を再現した。同様の結果は生後1か月齢以降のマウスにおいても観察された。
4. 上記mGluR5標的薬の作用点を明らかにするため、共役するイノシトール1,4,5三リン酸（IP₃）シグナリングに注目した。IP₃分解酵素であるIP₃ 5-phosphatase（5ppase）を過剰発現させることによる細胞選択的IP₃シグナリング阻害法を適用した。興奮細胞特異的プロモータを有するアデノ随伴ウイルスベクターを用いて、バレル皮質第2/3層錐体細胞においてIP₃シグナリングを阻害した。その結果、ヒゲ除去およびmGluR阻害で見られたものと同様の伝達物質放出確率の低下が認められた。また、第2/3層から第4層への逆行性因子の存在が示唆され、この因子の消失が放出確率の低下を招いていると考えられる。

以上、本論文はマウス体性感覚野バレル皮質第4層—第2/3層シナプスにおいて経験依存的なシナプス機能維持機構の存在を明らかにし、その分子機構を示した。ヒゲからの持続的な感覚入力、第4層神経細胞からのグルタミン酸放出を引き起こし、第2/3層錐体細胞の mGluR-IP₃ シグナリングを活性化し、逆行性因子を介して第4層神経細胞軸索終末からの伝達物質放出確率を維持する。ヒゲ除去、mGluR5 阻害、IP₃ シグナリング阻害によるこの維持機構の遮断が、前シナプスからの伝達物質放出確率低下を引き起こすと考えられる。本論文は、幼若期以降の個体での大脳皮質における可塑性だけでなく、シナプス機能維持機構という未だ解析が十分でないメカニズムにも光を当てるものであると考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。