

氏 名 松 下 かおり

学位（専攻分野） 博士(理学)

学 位 記 番 号 総研大甲第561号

学位授与の日付 平成13年9月28日

学位授与の要件 生命科学研究所 生理科学専攻

学位規則第4条第1項該当

学 位 論 文 題 目 Electrophysiological Studies on Cerebellar Synaptic  
Transmission in P/Q-type Ca<sup>2+</sup> Channel Mutant Mice

論 文 審 査 委 員	主 査 教授	重本 隆一
	教授	伊佐 正
	教授	井本 敬二
	助教授	柳川 右千夫
	教授	狩野 方伸 (金沢大学)

Recent genetic and molecular biological analyses have revealed many forms of inherited channelopathies, and single gene mutations is directly responsible for the neurological phenotypes. Homozygous ataxic mice, tottering (*tg*) and rolling Nagoya (*tg<sup>rol</sup>*), have mutations in the P/Q-type  $\text{Ca}^{2+}$  channel  $\alpha_{1A}$  subunit gene. The location of the mutations and the neurological phenotypes are known, but the mechanisms how the mutations cause the symptoms and how the different mutations lead to various onset and severity have remained unsolved. Here she compared fundamental properties of excitatory synaptic transmission in the cerebellum and its sensitivity to subtype-specific  $\text{Ca}^{2+}$  channel blockers among wild-type control, *tg*, and *tg<sup>rol</sup>* mice. The amplitude of excitatory postsynaptic current (EPSC) of the parallel fiber-Purkinje cell (PF-PC) synapses was considerably reduced in ataxic *tg<sup>rol</sup>*. Whereas the PF-PC EPSC was only mildly decreased in non-ataxic *tg* mice, the PF-PC EPSC was drastically diminished in ataxic *tg* mice of P28-35. In contrast, the EPSC amplitude of the climbing fiber-Purkinje cell (CF-PC) synapses was preserved in *tg*, and it was even increased in *tg<sup>rol</sup>*. CF-PC EPSC was more dependent on the N- and R-types in mutant mice, suggesting that such compensatory mechanisms maintain the CF-PC synaptic transmission virtually intact. The results indicate that the impairment of the PF-PC synaptic transmission well correlates with manifestation of ataxia, and that different mutations of the P/Q-type  $\text{Ca}^{2+}$  channel not only cause the primary effect of various severity but also lead to diverse secondary effects, which include up-regulation of other  $\text{Ca}^{2+}$  channel subtypes and enhancement of sensitivity of postsynaptic glutamate receptors.

## 論文の審査結果の要旨

電位依存性カルシウムチャネルは神経伝達物質放出をはじめとする多様な神経活動をコントロールする重要な分子群である。このうち特に P/Q-type のカルシウムチャネルを構成する $\alpha 1A$  サブユニットの遺伝子には、多くの突然変異が知られており、これらの変異を持ったマウスは様々な程度の小脳失調を呈することが知られているがそのメカニズムについてはよく分かっていない。

本学位論文は、 $\alpha 1A$  サブユニットのミュータントマウスである tottering (tg) と rolling Nagoya ( $tg^{rol}$ ) について、遺伝子変異がどのように小脳失調を引き起こすかを調べたものである。そのために小脳プルキンエ細胞とその主な2種類の入力線維との間のシナプス伝達について電気生理学的な解析を行っている。まず、平行線維を刺激してプルキンエ細胞から記録される興奮性シナプス後電流 (EPSC) を検討したところ、ミュータントマウスでは正常マウスに比べて、小脳失調の程度に応じた振幅の減少が見られた。また  $tg^{rol}$  では、神経終末に流入するカルシウムの減少を示す paired-pulse facilitation の増強が見られた。さらに tg と  $tg^{rol}$  で神経伝達物質放出に関与する P/Q-type カルシウムチャネルの割合が低下し、N-type および R-type の割合が増加していることが示唆された。一方、もう一つの入力線維である登上線維による EPSC は、 $tg^{rol}$  でむしろ振幅が増大していた。これは、シナプス後部の AMPA 受容体の感受性増大などの二次的な変化によるものと考えられた。また神経伝達物質放出に関与するカルシウムチャネルの割合は P/Q-type が低下し、N-type および R-type が増加していることが示唆された。

以上の結果は、ミュータントマウスでは小脳失調が登上線維プルキンエ細胞シナプスではなく平行線維プルキンエ細胞シナプスの機能低下によって起こっていると考えられること、遺伝子変異が神経線維終末の P/Q-type カルシウムチャネルの機能低下だけでなく、N-type および R-type の代償的な機能亢進や AMPA 受容体の感受性増大などを引き起こすことを示している。これらは、異なる P/Q-type カルシウムチャネルの突然変異がそれぞれ独特なチャネル機能異常や二次的な変化を引き起こしながら、平行線維シナプスの機能低下という共通のメカニズムをと小脳失調を発現させていることを示唆しており、大変興味深い。またこれらの実験は、高度な技術と的確なデータ解析および論理的な考察に基づいていると認められる。従って委員会は全員一致で本論文が博士の学位論文として相応しいものであると判定した。

学位論文の内容の発表および審査委員5名との間での質疑応答を行った。発表はよくまとまっており、大変分かりやすいものであった。また、申請者は多くの質問に対して、自ら行った実験の意義、結果の解釈、関連分野における所見などを的確に回答した。また、この学位論文が簡潔でわかりやすい英語で書かれていることや既に発表されている参考論文から語学力も充分であると考えられた。従って、審査委員全員により申請者は学位授与に相応しい学力があると判定した。