

氏 名 山 下 哲 司

学位（専攻分野） 博士(医学)

学 位 記 番 号 総研大甲第727号

学位授与の日付 平成15年9月30日

学位授与の要件 生命科学研究科 生理科学専攻

学位規則第4条第1項該当

学 位 論 文 題 目 Calcium-dependent inward current induced
by nicotinic acetylcholine receptors in
mesencephalic dopamine neurons

論 文 審 査 委 員 主 査 教授 井本 敬二
教授 伊佐 正
教授 岡村 康司
教授 堀江 稔（滋賀医科大学）

論文内容の要旨

Mesencephalic dopamine (DA) neurons receive a keen interest of many researchers because of their physiological and patho-physiological importance. Especially, the mechanism to modulate their firing pattern has been investigated for many years but still remains elusive. DA neurons are supposed to be modulated by excitatory and inhibitory inputs from other parts of the brain. It has been shown that N-methyl-D-aspartate receptors play an important role in modulating the firing pattern from tonic to burst firing mode, however it has been also claimed that the whole mechanism cannot be explained by them alone. On the other hand, cholinergic afferent projection from the pedunculopontine nucleus has recently been highlighted because both nicotinic and muscarinic acetylcholine receptors were reported to function in DA neurons. In this article, they will show that Ca^{2+} influx through nicotinic acetylcholine receptors in DA neurons subsequently activate inward current which is sensitive to flufenamic acid (FFA) and phenytoin and this current is presumed to be a subtype of calcium-dependent nonselective cation current, I_{CAN} . This channel exhibits a negative slope conductance and would induce a dramatic change in firing pattern of DA neurons from tonic single spikes to a multiple bursting spikes by markedly enhancing their depolarizing responses. Furthermore, the activation of this channel depends not on intracellular Ca^{2+} alone but also on the calmodulin- Ca^{2+} /calmodulin dependent protein kinase II pathway. In addition, they found that the activation of the FFA- and phenytoin sensitive current plays a major role in enhancement of the synaptic response to glutamatergic inputs when these inputs are coincident with the cholinergic inputs. Taken together, their results strongly suggest that cholinergic inputs to DA neurons modulate the firing pattern of DA neurons by the activation of I_{CAN} , via Ca^{2+} influx through the nicotinic receptors.

論文の審査結果の要旨

中脳のドーパミン細胞は前頭葉や大脳基底核の線状体などに投射し、運動や強化学習など高次脳機能の制御、また薬物に対する依存性の形成などに重要な役割を果たしているとされている。近年ドーパミン細胞の活動を修飾する重要な入力源として、同じ中脳の脚橋被蓋核に由来するコリン作動性入力の果たす役割が注目されている。申請者の山下哲司氏は、ラット中脳スライス標本においてホールセルパッチクランプ法による電気生理学的記録を行い、ドーパミン細胞に対するコリン作動性入力の作用を解析した。

申請者は今回の研究において、ニコチン型アセチルコリン受容体の活性化に伴う Ca^{2+} 流入により 2 次的に活性化される内向き電流を新たに見いだした。この電流成分は、1 mM のアセチルコリン局所投与で誘発される内向き電流の時間経過の遅い成分として検出され、 Ca^{2+} 依存性非選択性カチオン電流の阻害薬である fulfenamic acid (FFA) や phenytoin により抑制された。さらに申請者は、この FFA 感受性電流が、-80 mV と -40 mV の間の膜電位で脱分極するほど増大する電位依存性 (negative slope conductance) を有することを見出した。この特性は、FFA 感受性電流がドーパミン細胞の脱分極応答を増大する機能を持つ可能性を示唆する。実際、グルタミン酸の局所投与によって脱分極応答を誘発させながらアセチルコリンのアゴニストであるカルバコールを持続投与すると、脱分極応答が顕著に増大しドーパミン細胞がバースト様に発火することが示された。このバースト発火の誘発は、ニコチン受容体の活性化に引き続く FFA 感受性電流の誘発と、ムスカリン受容体の活性化による Ca^{2+} 依存性 K^{+} 電流の抑制により活動電位生成後の後過分極電位が抑制されたことによって起きていることが明らかにされた。

一方、この FFA 感受性電流の活性化には細胞内の Ca^{2+} /CaM (calcium-calmodulin) と CaMKII (Ca^{2+} /CaM-dependent protein kinase II) の活性化が必要であることも示された。さらに申請者らはアセチルコリンの投与を電気刺激によって誘発させた興奮性シナプス後電位 (EPSP) に 1-2 秒先行させると EPSP の振幅が顕著に増大することを見出し、その過程に FFA 感受性電流が関与することも明らかにした。

本論文は、アセチルコリン作動性入力によるドーパミン細胞の活動調節機構に関する新しく重要な知見であり、この研究分野に優れた貢献をしたものと認められる。従って、申請者による本論文は学位論文として十分ふさわしいものであると審査委員会は判定した。

学位論文として提出された研究結果について説明した後、審査委員が研究の内容および周辺の知識について試問を行った。その結果、研究内容の把握、位置付け、結果の考察、基礎知識ともに、博士号を授与するに足るレベルにあると判断された。また、本論文は平易な英語で書かれており、さらに研究成果は既に国際学術誌に 2 編が受理され、さらにもう 1 編についても受理に向けて改訂中であることから、申請者の語学能力は十分であると判断された。以上、総合的に判断し学位を取得するに足る水準に達しているものと判断した。