

氏 名 佐々木 幸恵

学位（専攻分野） 博士（理学）

学位記番号 総研大甲第 815 号

学位授与の日付 平成 16 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 6 条第 1 項該当

学位論文題目 Cellular mechanism of absence epilepsy in calcium
channel mutant mice

論文審査委員 主 査 教授 鍋倉 淳一

教授 伊佐 正

教授 小松 由起夫（名古屋大学）

Homozygous *tottering* (*tg*) mice have a mutation in the voltage-dependent Cav2.1 (P/Q-type) calcium channel $\alpha_12.1$ subunit gene. *tg* mice show not only cerebellar ataxia but also absence epilepsy, which begins at about 3 weeks of age and persists throughout life. Similarities in EEG abnormality and in pharmacological sensitivity to antiepileptic drugs suggest that *tg* mice can serve as a model of human absence epilepsy. To identify the mechanism of epileptogenesis, I studied the effect of the calcium channel mutation on the thalamocortical network using whole-cell patch clamp recordings in brain slice preparations.

The amplitude of inhibitory postsynaptic currents (IPSC) recorded from layer IV pyramidal cells of the cerebral cortex in response to thalamic stimulation became disproportionately reduced, compared with the amplitude of excitatory postsynaptic currents (EPSC), in the later developmental stage (P21-30). Similar results that the IPSC amplitude, but not the EPSC amplitude, was drastically diminished were obtained by local stimulation in layer IV pyramidal neurons. However, the reduction of the IPSC amplitude was not seen in layer V pyramidal neurons or in layer IV pyramidal neurons of younger *tg* mice before the onset of epilepsy (P14-16).

Furthermore, recordings of multiple field potentials revealed that cortical excitation evoked by layer IV stimulation spread more widely in epileptic *tg* than in control or non-epileptic *tg* mice, although the area of excitation was confined within a barrel. These results demonstrated a close relationship between impaired IPSCs in layer IV and absence epilepsy, and suggested that the defect of the feed-forward inhibition in the cortical input layer is associated with the generation of absence epilepsy in *tg* mice.

論文の審査結果の要旨

本研究は、神経疾患モデルマウスを用いて、てんかんの一種である欠神発作（小発作てんかん）の発症機序を解析したものである。実験に用いた tottering(*tg*)マウスは、脳神経系の主要な電位依存性カルシウムチャネルの一つである Cav2.1(P/Q 型)カルシウムチャネルの $\alpha_{12.1}$ サブユニット遺伝子に変異を持ち、小脳失調症に加え欠神発作を示す。欠神発作は生後約 3 週以降に発症し生涯続く。脳波的特長や抗てんかん薬に対する感受性の類似性から、*tg* マウスの欠神発作は、ヒトの欠神発作のモデルとして研究に用いられてきた。

これまで欠神発作の病態メカニズムに関しては、視床異常説と大脳皮質異常説が対立し長年の論争を続けてきたが、近年では視床と大脳皮質の連帯の問題であるとの説が有力となってきた。しかしシナプス伝達という観点から視床-大脳皮質連関の異常を積極的に探索した研究は報告されていない。申請者は *tg* マウスの脳スライス標本を用いて、おもに視床-大脳皮質投射のシナプス伝達を検討した。

成長した *tg* マウス (P21-30) において、視床刺激により大脳皮質第 4 層錐体細胞に誘発される興奮性シナプス後電流 (EPSC) はコントロールと差が見られないのに対して、抑制性シナプス後電流 (IPSC) は、コントロールに比較して顕著に減少していた。同様の結果が、大脳皮質第 4 層錐体細胞の近傍を局所刺激した場合においても得られた。しかしながら、このような IPSC の減少は、大脳皮質第 5 層錐体細胞において見られず、またてんかん発症前である若い *tg* マウス (P14-16) においても見られなかった。

さらに、多点局所場電位記録法を用いて、大脳皮質第 4 層刺激により誘発される大脳皮質内の興奮性を解析したところ、大脳皮質の興奮はコントロールと比較して空間的にもより広く広がることが示された。これらの変化も発達に関係しており、てんかん発症前の *tg* マウスではコントロールとの差が見られなかった。

これら結果は、大脳皮質第 4 層 IPSC の減少と欠神発作に密接な関係があることを示しており、大脳皮質入力層における feed-forward 抑制の機能低下が欠神発作の発症に重要であることが示唆された。

本研究は、従来の神経化学や脳波測定などの手法で明らかにすることの出来なかった *tg* マウス異常を、シナプス伝達・神経回路のレベルで明快に示した点で、高く評価される。また欠神発作発症のメカニズムに迫る研究であり、今後の発展が期待されるものである。

学問的背景や実験的手法の詳細などに関して口頭試問を行ったが、いずれに対する応答も満足すべきものであった。また本論文は明瞭な英語で書かれており、申請者の英語力も十分であると判定した。以上、総合的に判断し学位取得に足る水準に達しているものと判断した。