

論文内容の要旨

申請者氏名 駒井章治

本研究では長期増強に関連したスパイン構造変化の分子機構の解明を目的とし、当研究室で最初にクローニングされたセリンプロテアーゼ、ニューロプシンを中心に電気生理学的解析を行った。長期増強に関連したスパインの構造変化は Hosokawa ら (1995) や Maletic-Savatic ら (1999) によりその実体が明らかとされているが、この現象を担う分子機構については未だ明らかとなっていない。長期増強をスパインの構造変化という観点から修飾する分子と考えられるものにはアクチン等の細胞内分子や細胞接着因子等が考えられる。中でも細胞外プロテアーゼは細胞外からの情報に敏感に反応し、細胞外分子の切断を介してシナプス結合をダイナミックに変化させ、長期増強を俊敏に、且つより長期に修飾可能な分子であると考えられる。

これまでの我々の研究室による研究結果により、ニューロプシンは辺縁系、特に海馬に豊富で限局した mRNA の発現を示し、長期増強誘発刺激によってその発現量を増加させることが明らかとなっている。また可塑性のモデルである **kindling** マウスの脳室内にニューロプシン中和抗体を投与すると **kindling** 完成が遅れることも明らかとなっている。これらのことからニューロプシンが長期増強や **kindling** 等可塑的現象時に何らかの作用を持つ可能性が示唆される。そこで私は我々の研究室で初めて単離されたニューロプシンに注目し、ニューロプシンによる長期増強の修飾作用に関して、大きく2つの実験を行った。

(i) ニューロプシン蛋白質の長期増強に対する作用を検討する目的で、長期増強誘発時にリコンビナント・ニューロプシン蛋白質や中和抗体を投与し、長期増強発現の変化を検討した。(ii) ニューロプシン欠損による神経回路形成や可塑性の変化を検討することにより、ニューロプシンの生理学的機能を解明する目的で、当研究室の平田らにより作成されたニューロプシン遺伝子欠損マウス (NPKO) より得た海馬スライスにおける神経細胞の入出力特性、発火パターン、長期増強等を検討した。

以上のような解析から本研究では以下のような結果を得た。(i) 低濃度 (1-5 nM) リコンビナント・ニューロプシン蛋白質投与により長期増強レベルが増強され、高濃度 (20-170 nM) 投与により長期増強レベルが抑制された。抗ニューロプシン中和抗体投与やニューロプシン・アンチセンス・オリゴヌクレオチド投与により長期増強レベルが抑制された。また、その抑制レベルは中和抗体やアンチセンス・オリゴヌクレオチドにより抑制された酵素活性、蛋白質量に比例していた。(ii) NPKO 海馬スライスにおいて入力・出力関数の減少や 5 Hz 長期増強の減弱が見られた。また、細胞内記録法による結果から NPKO 海馬錐体細胞は **duration** の延長した活動電位を示し、その発火様式は順応の低下を示した。これらの結果はニューロプシンが神経間連絡を制御し、また神経可塑性に非常に重要な分子であることを示しており、その生化学的特性より長期増強に伴うスパイン構造変化を担う分子であることを示唆すると考えられる。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 駒井章治

神経可塑性とは非常にダイナミックな変化をも含有する。この神経可塑性により脳は様々な入力経験に対し、適切な応答を出力することが可能である。よって、この神経可塑性の解明無くしては脳の理解は不可能であると考えられる。このような神経可塑性を担う分子と考えられる分子の一つに、細胞接着関係を非常にダイナミックに変化させうるプロテアーゼが挙げられる。これまで tPA 等の分子が長期増強といった神経可塑性現象に深い関連をもつことが多くの研究結果から明らかにされてきた。しかし、一方プロテアーゼにより影響されると考えられるスパインの構造変化は長期増強の非常に初期に誘導されることも示されてきている。このことから長期増強の非常に初期を変化させうるプロテアーゼの存在が期待される。

本研究によりニューロプシンは長期増強の非常に初期を濃度依存的に修飾し、その作用は NMDA 受容体の修飾以外の作用により誘導されることが明らかとなった。また、ニューロプシン欠損マウスにおいては入力応答性の減少が見られ、機能的シナプス数の減少と未熟なシナプスの増加が誘導されていることが示された。このことはニューロプシンがシナプスの成熟化やターンオーバーに関連する分子であることを示唆している。それゆえ、神経可塑性に対する生体内におけるニューロプシンの機能として、その酵素活性により細胞外基質を切断することにより、新規シナプスの挿入や削除といった構造変化を誘導し、長期増強を修飾すると考えられる。

以上のように、本論文は神経可塑性に随伴するシナプス構造変化の分子機構解明の一助となるもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（バイオサイエンス）の学位論文として価値のあるものと認めた。