

学位授与番号	甲第 1685 号
学位授与年月日	平成 17 年 3 月 22 日
氏名	橋本谷 祐輝
学位論文題目	Phospholipase C β serves as a coincidence detector through its Ca ²⁺ dependency for triggering retrograde endocannabinoid signal (ホスホリパーゼ C β は Ca ²⁺ 依存性を介して逆行性内因性カンナビノイドシグナルの発生に際し同期性検出器として働く)
論文審査委員	主査 教授 多久和 陽 副査 教授 加藤 聖 教授 東田 陽博

内容の要旨及び審査の結果の要旨

近年、脳の様々な領域において内因性カンナビノイド(eCB)が逆行性シグナルとして働き、シナプス伝達を調節していることが明らかとなった。eCB はシナプス後ニューロンから合成・放出され、それがシナプス前終末に存在する CB 受容体を活性化し、神経伝達物質の放出を抑制する。eCB の合成・放出は、脱分極による細胞内 Ca²⁺濃度上昇や Gq 共役型受容体の活性化により引き起こされる。また、この2つの刺激が同時に起こると eCB の合成・放出は著しく促進される。この相乗効果の機構はこれまで不明であった。主要な eCB である 2-アラキドノイルグリセロールは膜のリン脂質からホスホリパーゼ C (PLC) とジアシルグリセロール (DAG) リパーゼの2つの酵素反応により生成される。PLC には5つのファミリー ($\beta, \gamma, \delta, \epsilon, \zeta$) が存在するが Gq 共役型受容体は、そのうち PLC β を活性化する。また、生化学的な実験から、PLC β 活性は Ca²⁺依存的事であることが知られている。そこで本研究では、脱分極と受容体活性化の相乗効果を PLC β の Ca²⁺依存性で説明できるかどうか検討した。

培養海馬ニューロン・ペアより抑制性シナプス後電流 (IPSC) を記録し、受容体活性化による eCB の放出を IPSC の振幅を指標にして調べた。Gq 共役型受容体活性化により引き起こされる eCB の放出は細胞内 Ca²⁺濃度に強く依存し、脱分極による一過性の Ca²⁺濃度上昇により増強された。また、この eCB 放出は PLC β 1 欠損マウスでは消失しており、受容体を介する eCB の放出に PLC β 1 が必須であることが判明した。

次に生きた細胞内の PLC の Ca²⁺依存性を調べるために、海馬ニューロンに DAG 感受性の陽イオンチャネルである TRPC6 を発現させ、その電流の大きさを指標にして PLC の代謝産物である DAG 量をリアルタイムで測定した。まず Gq 共役型受容体活性化による TRPC6 電流の誘発が PLC β 1 依存的事であることを確認した。さらにこの方法を用い、受容体を介する PLC β 1 の活性化が細胞内 Ca²⁺濃度に強く依存し、脱分極による Ca²⁺濃度上昇により増強されることが示された。

以上の結果より、eCB 合成・放出の律速酵素と考えられる PLC β 1 が細胞内 Ca²⁺濃度上昇と受容体活性化が同時に起こることにより強く活性化され、それが相乗効果の原因であることが明らかとなった。

本研究は、Ca²⁺依存的事な eCB の合成・放出機構を巧みな実験で明らかにしたものであり、学位に値する労作と評価された。