

氏名(本籍)	ばん の とも ひろ 伴 野 朋 裕 (茨城県)		
学位の種類	博 士 (医 学)		
学位記番号	博 甲 第 1,555 号		
学位授与年月日	平 成 8 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当		
審査研究科	医 学 研 究 科		
学位論文題目	プルキンエ細胞樹状突起における層板小体の形成機転		
主査	筑波大学教授	医学博士	白 石 博 康
副査	筑波大学客員教授	薬学博士	橘 真 郎
副査	筑波大学教授	医学博士	能 勢 忠 男
副査	筑波大学教授	医学博士	藤 井 敬 二
副査	筑波大学助教授	理学博士	入 江 勇 治

論 文 の 要 旨

(目的)

神経細胞の滑面小胞体は直径約100 nm の管状で、細胞体から樹状突起の先端まで連なるネットワークを形成しているが、小脳プルキンエ細胞においては、管状の滑面小胞体の他に、層板小体と呼ばれる厚さ約10~50 nm の扁平な滑面小胞体が積層した構造が別個に報告されてきた。しかし両者の関連性についてはまだ十分に解明されていない。

そこで著者は層板小体は無呼吸によって形成されるとの仮説をたて、滑面小胞体との関連を含めて実験的に検討した。

さらに、プルキンエ細胞に豊富に存在する代謝調節型グルタミン酸受容体と滑面小胞体との関連を検討した。

(対象と方法)

1) 10週齢のWistar系ラットを用いて、麻酔後の横隔膜切開によって1分から5分まで1分刻みで無呼吸時間を設定した。各個体について超薄連続切片を作製してプルキンエ細胞樹状突起を電顕観察し、滑面小胞体像を記載すると共に、滑面小胞体と層板小体を定量評価した。

2) 無呼吸に伴う滑面小胞体形態変化の可逆性を調べるために、3~5分の無呼吸後に人口呼吸を施し、層板小体の変化を観察した。

3) グルタミン酸受容体と層板小体形成の関連を知るために、各種のグルタミン酸受容体作動薬(L-グルタミン酸, NMDA, AMPA, カイニン酸, t-ACPD)をラットに脳内投与し、プルキンエ細胞樹状突起内の層板小体を定量すると共に、電顕像を比較した。

4) 代謝調節型グルタミン酸受容体の拮抗薬(L-AP 3)を事前投与したラットに3分の無呼吸を施し、L-AP 3による層板小体形成抑制効果を調べた。

(結果と考察)

層板小体の形成過程を知る目的で、無呼吸時間を1分刻みで細かく設定してプルキンエ細胞樹状突起を観察し

たところ、無呼吸2～3分においては、滑面小胞体や層板小体とは異なる第三の滑面小胞体が一過性に出現していた。それは、樹状突起を横断するように広がる扁平な滑面小胞体で、中央部分に多数の窓が開き、窓の中を微小管が一本ずつ貫通する構造となる有窓小胞体と呼ばれるものであった。有窓小胞体の辺縁には、無呼吸の初期(2～3分)においては管状の滑面小胞体が、無呼吸の後期(3～5分)では層板小体がつながっていることから、有窓小胞体は形態変化の中間形態であることが示唆された。以上より、3～5分の無呼吸の間に管状滑面小胞体は有窓小胞体を経て層板小体に変化するという道筋が明らかになった。

グルタミン酸をラットの脳室内に投与するとプルキンエ細胞樹状突起内に著明な層板小体が形成され、無呼吸にしなくても薬理的に層板小体を再現できることがわかった。グルタミン酸の受容体に特異的な作動薬を用いて検討した結果、イオンチャンネル型受容体を刺激しても層板小体は形成されず、代謝調節型受容体の作動薬であるt-ACPDの投与量依存的に層板小体が形成されたことから、層板小体の形成に最も関与するのは代謝調節型グルタミン酸受容体であると結論した。代謝調節型受容体はG蛋白と共役し、イノシトール三リン酸(IP₃)の産生を介してイノシトール三リン酸受容体(IP₃R)を有する滑面小胞体からCa²⁺を動員するが、層板小体のように滑面小胞体が密に重なる構造では小胞体上のIP₃Rがブロックされて機能しなくなることが予想される。プルキンエ細胞において起こる滑面小胞体の管状から層板状への変化は、滑面小胞体由来の過剰なCa²⁺放出を防ぐための形態的適応である可能性が考えられる。

審 査 の 要 旨

ラット小脳プルキンエ細胞の電顕観察と形態計測により、低酸素状態によって、プルキンエ細胞樹状突起内の滑面小胞体の有窓小胞体を経て層板小体に変化することを明らかにした。さらにグルタミン酸投与により同部位に層板小体が出現し、種々のグルタミン酸受容体作動薬の脳室内投与によって、この層板小体の形成は代謝調節型グルタミン酸受容体の活性化により起こることを明らかにした。また、グルタミン酸投与によって、AMPA/kinate型受容体の活性化が関与した変性所見も同時に出現することを示した。これらの結果は、低酸素条件下におかれた場合にグルタミン酸作動性入力を受ける神経細胞の変性過程について、現在最も指示されているグルタミン酸-カルシウム仮説の一過程を解明したものとして価値が高い。

よって、著者は博士(医学)の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。