

「脳を知る」

平成10年度採択研究代表者

小西 史朗

(株)三菱化学生命科学研究所 室長)

「抑制性シナプス可塑性の分子機構の解明とその応用」

1. 研究実施の概要

脳の働きは、興奮および抑制性シナプスにおける化学物質で仲介される情報伝達によって達成されている。したがってシナプス伝達の仕組みを明らかにできれば、脳に関する理解は著しく深まることが期待される。これまで興奮性シナプスに関する研究は精力的に進められているが、抑制性シナプスの研究は技術的理由によって遅れている。しかし抑制性シナプスは、興奮性シナプスに劣らず脳の正常な機能および神経疾患において重要な役割を果たしている。本研究は、抑制性シナプスの伝達機構を解明することを第一の狙いとしている。また、このような研究から得られた成果に基づいて、抑制性シナプスの伝達効率を修飾する薬物を探索して不安・抑鬱などの神経疾患薬物療法への可能性も探ろうとしている。

これまで小脳の GABA 作動性抑制性シナプスにおいて、セロトニンやノルアドレナリン（モノアミンと総称される）を含む神経が活動すると、GABA シナプスの伝達効率が長期間にわたって増強されることを発見した。この成果は、モノアミン系の働きを薬物によって選択的に修飾できれば、脳の抑制性シナプス活動を高めて一部の神経疾患を治療するための新しい道が開ける可能性を示している。たとえば多くの現代人が抱える不安（神経症）などは、GABA シナプスに作用する薬によって緩和することが知られているので、脳の抑制性シナプスの活動変化は不安症状を引起す要因となる。したがって本研究が目的としている抑制性シナプス機構の解明と修飾物質の開発は、神経疾患の薬物療法に多大な貢献をもたらす。そこで動物の不安モデルを用いて、不安刺激によって引起されるシナプス伝達の変化や不安中枢における物質的变化を電気生理学的・分子生物学的手法によって解析している。また、モノアミンが働く受容体分子に影響する選択的な薬物を探索するための研究も並行して進めている。このような研究の成果は、抑制性シナプスの情報伝達がどのように制御されるかについて基礎的な理解を深めるだけでなく、神経疾患を薬物によって治療するための応用面でも寄与が大きいものと予想される。

2. 研究実施内容

(1) 脳スライス-パッチクランプ法によるシナプス機構の解明

① 小脳 GABA シナプスの増強的制御機構

モノアミン作動性神経で仲介される小脳 GABA シナプスの増強現象に関与する分子機構を解明するため、以下のような三つの試みを実施した。

a) モノアミン作動性 GABA シナプス増強の作用部位を特定するため、二回刺激で誘発される GABA 作動性抑制性シナプス電流(IPSC)の振幅のペアード・パルス比(PPR)に着目した。PPR 分散の変化は、シナプス伝達効率の調節部位を特定する極めて有効な指標となることを見出した。伝達効率が前シナプス性に変化すると、IPSC の PPR 分散は減少し、逆に伝達が後シナプス性に影響を受けても PPR 分散は変化しなかった。ノルアドレナリンおよびイソプロテレノール (β アドレナリン受容体アゴニスト) さらに cyclic AMP 上昇薬フォルスコリンは、PPR 分散の減少を伴う GABA シナプス伝達の増強を引起した。このような事実に基づき、モノアミンは前シナプス要素に作用して GABA シナプスの伝達効率を増強させると結論した。

b) 抑制性 GABA シナプスにおける伝達機構を研究するため、新しい統計学的手法を導入してシナプス伝達の量子的解析を試みた。

c) GABA シナプス前要素バスケット細胞における解析。ノルアドレナリンとイソプロテレノールが、バスケット細胞を脱分極させることを見出した。この脱分極作用は、過分極活性化カチオンチャンネル電流 (I_h) の刺激によって引起されることを明らかにした。 I_h 電流は cyclic AMP で刺激され、 I_h 電流の活性化はモノアミンによる GABA シナプス増強作用の少なくとも一部を仲介することが示された。

② 小脳 GABA シナプスの抑制的制御機構

登上線維の刺激によって放出される興奮性神経伝達物質 (おそらくグルタミン酸) は、プルキンエ細胞に後シナプス性興奮作用を引起すと同時に、バスケット細胞にも作用して GABA 放出を阻害する二相性効果を持つことを発見した。この GABA シナプス抑制作用は、AMPA 型グルタミン酸受容体サブタイプによって仲介されることを示す有力な証拠を得た。すなわち AMPA 型グルタミン酸受容体サブタイプは、後シナプス性の直接的興奮作用のみならず前シナプス性抑制作用を持ち、二重機能によってプルキンエ細胞からの小脳出力を強化することを初めて明らかにした。また小脳 GABA シナプスは、モノアミン受容体および AMPA 受容体によって相反的調節を受けていることが示唆された。

③ 扁桃体のシナプス機構

小脳で見出した GABA シナプス制御機構の普遍性を探求するためと、情動反応における GABA シナプスの役割に着目して、扁桃体スライスを用いた実験を開始した。今年度は手始めに GABA_B 受容体の関与するシナプス機構を明らかにすることを試みた。外来投与した GABA_B 受容体アゴニストのバクロフェンは、扁桃体ニューロンへの興奮性および抑制性シナプス入力を前シナプス性に抑制することが明らかになった。高濃度アゴニストは、後シナプス性に外向き電流（過分極）も発生した。さらには神経刺激によって放出された内在性 GABA は、バクロフェンの作用を模倣して興奮性シナプス伝達の前シナプス性抑制を誘発することを明らかにした。現在扁桃体における神経ペプチドおよびモノアミンの作用を検討中である。

(2) GABA シナプス可塑性の分子機構

- ① モノアミン刺激でリン酸化を受ける蛋白質の検索
- ② 新しいシナプス可塑性調節因子の探索

音刺激に続く床電気ショックを加えて恐怖条件付けしたラットを作製し、このような動物の脳から mRNA および蛋白質を抽出して分析を開始した。

(3) 準備中の研究

- ① 特異的モノアミン受容体サブタイプに関する研究
- ② 抑制性シナプス可塑性に関与する機能的・形態的変化の探索

3. 主な研究成果の発表（論文発表）

無し