

## 主論文審査の要旨

1999年、Rheeらは世界で初めて機械的振動を海馬スライスに与えて剥離し、微小な前シナプス神経終末部と後シナプス神経を一緒に標本化する（シナプス・ブートン標本）ことに成功した。このことにより、中枢神経系における前シナプス神経終末部に存在するイオンチャンネルの生理学的研究が進められ、海馬などでは、後シナプス電流発生に前シナプス線維終末部のテトロドトキシン感受性Na<sup>+</sup>チャンネルやL型、N型、P/Q型、R型の高域値活性化型Ca<sup>2+</sup>チャンネルが関与することが明らかにされた。また、グリシン作動性シナプスが多数存在しているラット脊髄背側交連核において、グリシン作動性神経終末部からグリシンを放出する際に働いているK<sup>+</sup>チャンネルサブタイプの寄与が明らかになった。しかしながら、このグリシン放出にCa<sup>2+</sup>チャンネルサブタイプがどのように関与しているかは明らかにされていない。

本研究の目的は、グリシン作動性シナプスが多数存在しているラット脊髄背側交連核シナプス・ブートン標本を用い、グリシン作動性神経終末部で、如何なるCa<sup>2+</sup>チャンネルサブタイプが関与しているかを電気生理学的手法および薬理学的手法によって明らかにすることである。

論文は以下の6章から構成されている。

第1章の序論では、本研究の背景と目的および論文の構成について述べている。

第2章では、本研究において使用するホールセルパッチクランプ記録法について概説し、次にラット脊髄背側交連核の解剖学的特徴およびシナプス・ブートン標本の作成方法を述べ、実際に機械的振動の最適周波数について調べている。

第3章では、作製したシナプス・ブートン標本を用いてシナプス前線維から自発性のグリシンが遊離されていることを確認するために各種の伝達物質阻害剤を用いてシナプス後線維に誘発されるシナプス後電流の変化を調べている。その結果、シナプス前線維から確かにグリシンが自発的に遊離していることを確認している。

第4章では、作製したシナプス・ブートン標本を用いて、シナプス前線維にある単一グリシン作動性神経終末部に微小ガラス電極を設置して電気刺激を行い、シナプス後線維からその電流変化を記録して、フォーカル電気刺激法における基礎的検討を行っている。その結果、電気刺激の強度を閾値付近に設定して刺激を行うと、異なる細胞でその閾値に対する反応の大きさは異なり、同じ細胞の刺激でも刺激毎にシナプス後電流の大きさは異なっていた。また、刺激電流を増加させると、シナプス後電流は増加していき、最終的には一定の電流値を示していた。この時、発火失敗率も減少を示し、同じく一定値を示した。この結果から、フォーカル電気刺激によって記録した波形が単一グリシン作動性シナプス前線維からの放出によって得られたものであることを述べている。

第5章では、単一グリシン前線維における活動電位依存性のグリシン遊離に如何なるCa<sup>2+</sup>チャンネルサブタイプが関与しているのかを各種Ca<sup>2+</sup>チャンネル阻害剤を用いて調べている。その結果、グリシンの放出には、P型およびR型Ca<sup>2+</sup>チャンネルサブタイプが主

に調節を行っており、また、N型およびL型  $\text{Ca}^{2+}$ チャンネルサブタイプは補助的な働きを持っていることを推察している。一方、T型およびQ型  $\text{Ca}^{2+}$ チャンネルサブタイプはグリシン放出にはほとんど関与していない可能性があることを述べている。

第6章では、総括および結論を述べている。

以上、本研究は、シナプス・ブートン標本を用いて、シナプス前線維にある単一グリシン作動性神経終末部に微小ガラス電極を設置してフォーカル電気刺激を行い、シナプス後線維からその電流変化を記録して、これまでほとんど明らかにされていなかった中枢神経系でのグリシン作動性前シナプス神経終末部に存在する  $\text{Ca}^{2+}$ チャンネルサブタイプの存在を電気生理学的に証明した画期的なものでその学術的価値は極めて高い。また、これらの研究成果の主要部を国際誌に1編掲載し、国際学会に4件発表している。

以上のことから、本研究の独創的かつ価値ある研究成果は、国際的に高く評価され、博士（学術）の学位を授与するに十分値すると認められる。

### 【学位審査報告書の3】

審査委員会は学位論文提出者に対して当該論文の内容および関連の専門分野について試問を行った。その結果、該当する研究分野において十分な知識と理解力および研究遂行能力を有していると判断した。また、外国語（英語）による論文作成能力ならびに口頭発表能力についても、研究者として十分なレベルの能力を備えていると認めた。

以上の結果に基づき、論文提出者は博士（学術）としての能力を十分備えていると判定した。

審査委員	情報電気電子工学専攻 人間環境情報講座	担当教授	村山 伸樹
審査委員	情報電気電子工学専攻 人間環境情報講座	担当教授	井上 高宏
審査委員	複合新領域科学専攻 衝撃エネルギー科学講座	担当教授	勝木 淳
審査委員	情報電気電子工学専攻 人間環境情報講座	担当准教授	林田 祐樹
審査委員	情報電気電子工学専攻 人間環境情報講座	担当准教授	伊賀崎 伴彦