

氏 名	やま だ じゅん こ 山 田 順 子
学位(専攻分野)	博 士 (学 術)
学 位 記 番 号	博 甲 第 236 号
学位授与の日付	平成13年3月26日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	工芸科学研究科 機能科学専攻
学位論文題目	Mechanisms of GABA_B receptor-mediated regulation of synaptic transmission in the rat amygdala studied by using patch-clamp techniques and brain slices.
審 査 委 員	(主査) 教 授 清 原 壽 一 教 授 松 本 継 男 教 授 遠 藤 泰 久

論 文 内 容 の 要 旨

大脳辺縁系に属する扁桃体は、不安・情動の中枢として以前から知られていた。しかし、これらは主に、局所破壊実験などによるもので、神経細胞間のシグナル伝達、すなわちシナプスレベルでの研究例は少ない。本研究は脳内で主要な役割を果たしている抑制性伝達物質GABA（γ-アミノ酪酸）の受容体で近年クローニングされたGABA_B受容体の扁桃体における抑制機構について脳スライス標本を用いたパッチクランプ法という電気生理学的手法を用いて詳細に解析したものである。

本論文は以下の4章からなる。

第一章は序章であり、本研究の背景となるGABA_B受容体、扁桃体等について現在の知見を概説している。

第二章ではラット扁桃体基底外側部(BLA)の主細胞から記録した興奮性後シナプス電流（EPSC）、抑制性シナプス電流（IPSC）を解析している。その結果BLAにおける興奮性および抑制性シナプス伝達が、GABA_B受容体の活性化によってシナプス前終末からのグルタミン酸、GABAの放出を押さえ、シナプス前性の抑制を受けるためであることを受容体作用薬、拮抗薬を用いて明かにしている。GABA_B受容体の作用がシナプス前性であることを証明するため、1）2発パルス刺激により誘発される電流の解析、2）自発性微小シナプス電流の解析、の2方法を用いた。以上薬理学的実験に加え、実際にGABAを放出する神経繊維に電氣的頻回刺激を与え、グルタミン酸作動性興奮性伝達は神経刺激により生理現象として放出された内因性のGABAによりGABA_B受容体を仲介した抑制反応が起こることを示した。

第三章では二章で得た結果に基づき、BLAニューロンにおけるGABA_B受容体を仲介するグルタミン酸放出の抑制機構をさらに検討した。誘発性シナプス電流記録と自発性シナプス電流解析の2方法を用いてGABA_B受容体の活性がアデニル酸シクラーゼ-cAMP経路を抑制し、その結果としてPKAの活性を抑えることを示した。一方、この抑制効果にはカルシウムチャネル、カリウムチャネルのいずれも関与しないことを示した。次ぎにPKAの修飾先を推測するため伝達物質放出機構に直接作用すると考えられている高張ショ糖液を用いた実験も行った。以上の結果から、GABA_B受容体を介したシナプス前抑制は細胞内cAMPカスケードに依存する機構に対する直接的な負の調節によっても引き起こされることが明らかとなった。これにより、これまでの通説であったGABA_B受容体によるCa²⁺チャネル、K⁺チャネルの修飾作用とは異なる抑制経路の存在を示した。

第四章は本研究で得られた結論が総括されている。

論文審査の結果の要旨

本研究は、脳スライスを用いたパッチクランプ法という電気生理学的手法を用い扁桃体の抑制機構を詳細に解析したものである。

不安、恐怖など情動反応の中樞である扁桃体の基本的なシナプスの仕組みを明らかにして、脳内で重要な役割を果たしている抑制性伝達物質 GABA (γ -アミノ酪酸) をリガンドとする GABA_B 受容体の扁桃体での生理的作用を明らかにした。申請者はパッチクランプ法という手法を駆使し、薬理学的データのみならず内因性物質による生理現象もとらえ神経細胞の抑制のメカニズムを明確に示した、また、GABA_B の抑制メカニズムにこれまでの通説とは異なる経路が存在する事を示した。これらの結果は扁桃体において GABA_B 受容体が伝達物質放出にかかわる生理機能の調節に重要な役割を果たしていることを示唆している。扁桃体の抑制機構は抗不安薬等臨床薬の作用部位として注目されており、申請者の知見は極めて価値のあるものと認められる。

本論文の内容の一部は以下に示す 4 編の論文として国際学術雑誌に公表済または公表予定であり、そのうち 2 編は申請者が筆頭著者である。

GABA_B receptor-mediated presynaptic inhibition of glutamatergic and GABAergic transmission in the basolateral amygdala.

Yamada, Junko., Saitow, Fumihito., Satake, Shin'Ichiro.,

Kiyohara, Toshikazu., Konishi, Siro.

Neuropharmacology, 38.1743-1753.(1999)

Synaptic activation of AMPA receptors inhibits GABA release from cerebellar interneurons,

Shin'Ichiro Satake, Fumihito Saitow, Junko Yamada, Shiro Konishi

Nature neuroscience, volume 3, no.6 June 551-558 (2000)

b-Adrenergic Receptor-Mediated Presynaptic Facilitation of Inhibitory GABAergic Transmission at Cerebellar Interneuron-Purkinje Cell Synapses.

Fumihito Saitow, Shin'Ichiro Satake, Junko Yamada, Shiro Konishi

Journal of Neurophysiology, 84, 2016-2025. (2000)

GABA_B receptor mechanisms in synaptic transmission via cAMP-dependent pathway.

Yamada, J., Saitow, F., Satake, S., Kiyohara, T., and Konishi, S. to be submitted