

論文内容要旨 (和文)

氏名 飯田 久美子



論文題目 MODULATION OF SINGLE VOLTAGE-DEPENDENT CALCIUM CHANNELS BY NITRIC OXIDE AND MONOAMINE SIGNALING PATHWAYS IN KENYON CELLS ISOLATED FROM MUSHROOM BODIES IN THE BRAIN OF THE CRICKET *GRYLLUS BIMACULATUS*

(フタホシオオロギの脳中枢キノコ体の解離ケニオン細胞における単一 Ca^{2+} チャネルの一酸化窒素及びモノアミンシグナル伝達による修飾)

近年、昆虫が高度な匂い学習・記憶能力を持つことが行動薬理学的研究により明らかにされている。フタホシオオロギでは、匂いと味の一回の条件付けで短期記憶が、複数回の条件付けで長期記憶 (LTM) が成立し、条件刺激 (CS) である匂い情報はアセチルコリン、無条件刺激 (US) のうち報酬情報はオクトパミン (OA)、罰情報はドーパミン (DA) がそれぞれ担うことが知られている。さらに近年、ガス状分子の一酸化窒素 (NO) が、短期から長期への記憶移行過程において重要であることが示唆されている。昆虫には前大脳部位にキノコ体と呼ばれる脳構造があり、その内部には内在性のケニオン細胞が密集して存在し、記憶形成に重要な役割を果たしていることが知られている。しかしながら、これまでモノアミンである OA や DA、また NO シグナルの標的分子は、明らかにされていない。またこれら物質のケニオン細胞の膜興奮性に対する作用も明らかにされていない。

一般に脳の組織標本を用いた研究では、神経回路が保持されているために、調べたい物質の作用が、記録部位の細胞への直接作用によるものか、シナプスを介した間接作用によるものか判断できない。そこで本研究では、キノコ体組織に酵素処理を施し、急性単離した単一のケニオン細胞を用いた。モノアミンや NO の標的分子の候補として、ケニオン細胞の膜興奮性を決定するイオンチャネルのうち、電位依存性 Ca^{2+} チャネルに着目した。単一 Ca^{2+} チャネルの電気生理学的及び薬理学的特徴を明らかにし、次に NO 及びモノアミン (OA 及び DA) の作用を単一チャネル電流計測法である Cell-attached パッチクランプ法を用いて調査した。

その結果、ケニオン細胞で頻回記録される Ca^{2+} チャネルは、単一チャネルコンダクタンスが 20 pS の高閾値活性化型で、不活性化過程が遅いジヒドロピリジン低感受性のチャネルであることがわかった。NO はサイクリック GMP/プロテインカイネース G を介したシグナル伝達経路によって Ca^{2+} チャネルの開口確率 (P_o) を増強することが判明した。NO はさらに、脱分極性電流注入によって発生する誘発性活動電位の発火頻度及び発生数を上昇させることが明らかとなった。この結果は、NO がケニオン細胞の膜興奮性を上昇させる神経修飾物質として働き、 Ca^{2+} チャネルの P_o 上昇がその一部に寄与している可能性を示唆した。一方、モノアミンの OA はサイクリック AMP/プロテインカイネース A を介したシグナル伝達経路によって Ca^{2+} チャネルの P_o を減少させるのに対し DA は D_2 受容体を介して P_o を増加させることが明らかとなった。

以上の結果から、単一チャネルコンダクタンス 20 pS の高閾値活性化型電位依存性 Ca^{2+} チャネルのリン酸化による機能変化が、嗅覚連合学習における LTM 形成に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

学位論文の審査及び学力確認の結果の要旨

平成 28 年 2 月 16 日

理工学研究科長 殿

論文博士論文審査委員会

主査 長山 俊樹

副査 横山 潤

副査 渡邊 明彦

副査 奥野 貴士

副査 吉野 正巳



学位論文の審査及び学力確認の結果を下記のとおり報告します。

記

論文申請者	氏名 飯田 久美子		
論文題目	MODULATION OF SINGLE VOLTAGE-DEPENDENT CALCIUM CHANNELS BY NITRIC OXIDE AND MONOAMINE SIGNALING PATHWAYS IN KENYON CELLS ISOLATED FROM MUSHROOM BODIES IN THE BRAIN OF THE CRICKET <i>GRYLLUS BIMACULATUS</i> (フタホシコオロギの脳中枢キノコ体の解離ケニオン細胞における単一 Ca ²⁺ チャネルの一酸化窒素及びモノアミンシグナル伝達による修飾)		
学位論文審査結果	合格	論文審査年月日	平成 28 年 1 月 27 日～ 平成 28 年 2 月 3 日
論文公聴会	平成 28 年 2 月 3 日	場 所	基盤教育 1 号館中 3 階 136 教室
学力確認結果	合格	学力確認年月日	平成 28 年 2 月 3 日

学位論文の審査結果の要旨 (1,000 字程度)

本学位論文は、高度な学習能力を持つ昆虫の脳における古典的条件付けに関わる分子機構の解明に関するものである。昆虫の記憶中枢であるキノコ体の内在性介在ニューロンのケニオン細胞に対し、短期から長期への記憶移行過程において重要な役割を果たすとされるガス状のシグナル伝達分子、一酸化窒素 (NO)、報酬情報を媒介するオクトパミン (OA) 及び罰情報を媒介するドーパミン (DA) がいかなる作用を持つか調べている。本学位申請者は、標的細胞を特定するため、キノコ体組織に酵素処理を施し、急性単離した単一のケニオン細胞を用いている。標的候補分子として、ケニオン細胞の膜興奮性を決定するイオンチャネルのうち、電位依存性 Ca²⁺チャネルに着目し、パッチクランプ法を用いて巨視的及び単一チャネル電流を同定・記録し、OA, DA 及び NO の作用を明らかにした。

GENERAL INTRODUCTION では、昆虫の学習・記憶の分子メカニズムに関する研究を概括し、OA, DA 及び NO の作用に関する研究背景、実験材料としてフタホシコオロギを用いる理由、標的分子として Ca²⁺チャネルを選定した理由を明確に述べている。第 1 章ではケニオン細胞に単一チャネルコンダクタンス 20 pS の高閾値活性化型の Ca²⁺チャネルを同定し、NO がサイクリック GMP/プロテインカイネース G を介したシグナル伝達経路によって Ca²⁺チャネルの開口確率 (Po) を増強することを明らかにしている。NO はさらに、誘発性活動電位の発火頻度を上昇させることを明らかにし、NO が興奮性のモジュレーターとして働き、Ca²⁺チャネルの Po 上昇がその一部に寄与している可能性を示唆した。第 2 章では OA がサイクリック AMP/プロテインカイネース A を介したシグナル伝達経路によって Ca²⁺チャネルの Po を減少させるのに対し DA は Po を増加させることを明らかにした。GENERAL DISCUSSION では、NO, OA 及び DA が記憶形成に果たす役割について総合的な考察をしている。ケニオン細胞とシナプスを形成する出力ニューロン間のシナプス伝達効率の変容に関わる仮説を提唱し、この分野に学術的示唆を与えるものである。

本研究の成果は申請者を筆頭著者とする 4 つの論文として、査読付き欧文誌に既に掲載されている。また、英語で書かれた本論文も論理的かつ適切に構成されており、英語能力も秀でている。研究の独自性及び理解度等、博士論文 (理学) の審査基準を十分満たしているものと認め、5 名の審査員一同、学位論文の審査を合格と判定した。

学力確認の結果の要旨

学力確認は、博士論文公聴会における質疑応答と、口頭試問を通じて、博士論文に関連する内容及び当該専攻分野の内容について実施した。その結果、博士として必要とされる専門知識、研究能力及び学力は十分であると認められた。

外国語科目 (英語) について、査読付き欧文誌の英文による筆頭論文 4 報から、英語力は十分に備えていると判断した。5 名の審査委員による審議の結果、合格と判定した。