

P112 代謝調節型グルタミン酸受容体を介する小脳 GABA 作動性シナプス伝達の修飾

久保田英雄<sup>1,2</sup>、吉岡耕一<sup>1,2</sup> (1 東京医歯大医、2 CREST・JST)

ラット小脳プルキンエ細胞を用いてパッチクランプ法により代謝調節型グルタミン酸受容体 (mGluR) の GABA 作動性シナプス伝達に対する修飾作用を検討した。グループ I mGluR アゴニスト DHPG は自発性抑制性シナプス後電流 (sIPSC) の頻度を上昇させたが、電気刺激誘発性の IPSC (eIPSC) の振幅は著しく抑制した。グループ II と III の mGluR アゴニストは eIPSC を抑制したが、sIPSC の頻度は上昇させなかった。薬理的な解析により、各アゴニストの作用はグループ特異的であることが示された。グループ I mGluR 活性化は、小脳 GABA シナプスに対して興奮性と抑制性の 2 つの作用をもつことが示唆された。

P113 小脳において登上線維で仲介される脱抑制のシナプス機構

佐竹伸一郎<sup>2</sup>、小林貴則<sup>1,2</sup>、小西史朗<sup>1,2</sup> (1 三菱生命研、2 CREST・JST)

プルキンエ細胞から記録した抑制性シナプス後電流 (IPSC) は、登上線維の反復刺激により顕著に抑制される。この脱抑制現象は、AMPA 型グルタミン酸受容体の活性化に伴うシナプス前性機構により仲介されたと推定される (Nat. Neurosci. 3, 551-558, 2000)。グルタミン酸取り込み阻害薬 (Threo- $\beta$ -benzyloxyaspartate : TBOA) を用いて、脱抑制のシナプス機構を調べた。登上線維刺激に伴う IPSC 抑制は、TBOA (30  $\mu$ M) により有意に増強された。TBOA は興奮性シナプス後電流 (EPSC) の減衰時間を増大させたが、EPSC の振幅には影響しなかった。これらの結果から、登上線維刺激に伴うシナプス近傍のグルタミン酸濃度上昇は、籠細胞終末の AMPA 受容体を活性化できる可能性が支持された。

P114 ラット扁桃体における恐怖条件づけ連合学習によるタンパク発現変化

鈴木秀典<sup>1,3</sup>、田岡万悟<sup>1</sup>、羽田栄輔<sup>2,3</sup>、中野朝彩子<sup>2</sup>、蒔苗公司<sup>2,3</sup>、池上司郎<sup>2,3</sup>、小西史朗<sup>2,3</sup>

(1 日本医大薬、都立大理、2 三菱生命研 3 CREST・JST)

不安や恐怖などの情動反応は長期的に持続する記憶や学習過程を伴っており、このような情動記憶の成立、保持には脳内の扁桃体が重要な位置を占めている。情動記憶の動物モデルとして採用した恐怖条件づけ (FC) したラットの扁桃体で、恐怖記憶が形成される過程で発現量の変化するタンパク分子を検索した。恐怖連合学習を獲得したラットの扁桃体を摘出し、タンパクを抽出した。これを二次元電気泳動によって分離し、泳動パターンを対照群と比較した。発現が増加するか新たに出現した約 50 個のスポットから回収した分子をマススペクトル法-データベース照合によって解析した。FC の成立に伴って複数のシナプス関連タンパクが増加していることが判明した。恐怖記憶の獲得は、扁桃体シナプスにおけるタンパク分子レベルの顕著な変動と連動することが示された。

P115 小脳バスケット細胞における  $\beta$ -アドレナリン受容体を介した GABA 放出増大機構

斎藤文仁<sup>2</sup>、池淵穰<sup>1,2,3</sup>、小西史朗<sup>1,3</sup>

(1 三菱生命研、2 北里大・理・院、3 CREST・JST)

ラット小脳のバスケット細胞 (BC) とプルキンエ細胞 (PC) 間の GABA シナプスでノルアドレナリン (NA) は伝達効率を増強するので、この作用機構を検討した。NA は BC 上の  $\beta$ 2 受容体を介して細胞内 cAMP

生成を刺激し、2種類の異なる作用を引き起こした。1) NA 刺激で生成された cAMP は過分極活性型陽イオンチャンネル (H チャンネル) を直接刺激して、BC に脱分極、スパイク発射を起こし、自発的 GABA シナプス反応(IPSC)を増加した。2) H チャンネル抑制下に、NA は刺激で誘発される IPSC の振幅を増加し、微小 IPSC の頻度および高浸透シヨ糖溶液で引き起こされる GABA 電流を増加した。BC の  $\beta$  受容体活性化は、興奮性の増大と GABA 遊離機構の増強に連関することが示された。

#### P121 脂質メディエーター合成諸酵素の脳内局在に関する免疫組織化学的検討

島田厚良<sup>1,2</sup>、岸川正大<sup>1,2</sup>、清水孝雄<sup>2,3</sup> (1 愛知コロニー、2CREST・JST、3 東大院医)

ホスホリパーゼ A2 (cPLA2)、ロイコトリエン C4 水解酵素 (LTC4S)、ロイコトリエン A4 水解酵素 (LTA<sub>4</sub>H)、5-リポキシゲナーゼ (5-LO) のマウスにおける脳内局在を知るために、免疫組織化学的染色を行った。cPLA2 は小脳プルキンエ細胞に強く発現し、LTC4S は視床下部の室傍核・視索上核・後室周囲核の神経細胞および互いの核を結ぶ軸索線維束に、それぞれ極めて選択的に局在した。LTA<sub>4</sub>H は、脳室系周囲・後索核・小脳皮質・脳神経核と線維束を主体に神経細胞に局在し、まれに大脳皮質神経細胞が陽性であった。5-LO については淡い陽性像が白質に見られた。以上、脂質メディエーター合成諸酵素がニューロンに発現していたのは興味深い。

#### P122 刺激依存性・海馬歯状回特異的新規ホスホリパーゼ A 2 アイソフォーム

岸本幸治<sup>7</sup>、魚住尚紀<sup>1,7</sup>、和泉孝志<sup>1,7</sup>、白川純<sup>1</sup>、清水孝雄<sup>1,7</sup>、黒柳秀人<sup>3</sup>、鈴木陽一<sup>4</sup>、白澤卓二<sup>4</sup>、中館和彦<sup>5</sup>、渡辺恭良<sup>5,6</sup>

(1 東大院、生化学細胞情報、2 群馬大・医・生化学、3 東医歯大・機能解剖、4 老人研・分子遺伝、5 大阪バイオ研・神経科学、6 大阪市大・医・第一生理、7 CREST・JST)

85kDa 細胞質型ホスホリパーゼ A2 (cPLA2) は脳神経細胞に豊富に発現し、膜リン脂質からアラキドン酸を切り出すなど、種々の神経機能に関与することが示唆されている。神経刺激によるラット脳での cPLA2 の発現変化を調べたところ、カイニン酸処理で、一過性に、海馬歯状回特異的に発現する mRNA を見いだした (KIDS cPLA2)。この mRNA が蛋白質として存在することがウエスタンブロットと免疫組織染色でも確認され、神経前駆細胞に誘導されることもわかった。また、このアイソフォームの誘導発現は cPLA2 のノックアウトマウスのカイニン酸刺激によっても観察され、推定されるプロモーター配列が cPLA2 遺伝子のイントロン中に存在し、種を越えて高度に保存されていることなども明らかになった。現在はその生物学的意義の解明を行っている。 K.Kishimoto, et.al. (1999) Neuroscience, 92:1061-1077.

#### P123 神経系に発現する G-タンパク質共役型受容体のリガンド探索

横溝岳彦、萩谷洋、川沢百可、石井聡、清水孝雄 (CREST・JST、東大院医)

ヒトゲノム上には 3000 種類程度の G-タンパク質共役型受容体 (GPCR) が存在すると推定されているがこれまでにリガンドが同定されたものは約 400 個に過ぎない。リガンドが不明な受容体は孤児受容体 (Orphan receptor) と呼ばれ、そのかなりの割合は脂質をリガンドとする受容体であると考えられる研究者も多い。これまでに我々は血小板活性化因子受容体、二つのロイコトリエン B4 受容体遺伝子を単離し、これらを解析