

## 2 光子励起法によるカルシウム依存性細胞機能の解析

岡崎国立共同研究機構・生理学研究所・河西春郎

二光子励起顕微鏡法は、まだ多くの新しい可能性を秘めた21世紀の顕微鏡法である。我々は、この顕微鏡法を新しいアプローチで新しい標本に適用して、カルシウム依存性細胞機能研究のブレークスルーとなる研究を行うことを企画した。実際、こうして外分泌腺のカルシウム依存性開口放出が初めて可視化された結果、開口放出した分泌顆粒の $\Omega$ 構造が極めて安定で、逐次充填という機構で、開口放出が腺腔を拡張しながら細胞内に進むことを解明した。一方、膵臓ランゲルハンス島においてベータ細胞のインスリン顆粒の開口放出が初めて可視化された結果、開口放出は血管に面した細胞膜だけでなく、ほぼ細胞全周囲で起きること、開口放出した $\Omega$ 構造は極めて不安定で2～3秒で細胞膜に平滑化するなど、細胞表面を最も有効に利用した様式をとることが明らかとなった。この様な開口放出様式の多様性はアクチン細胞骨格が維持している可能性が高い。更に、二光子励起法をケイジドグルタミン酸に応用することにより、脳スライス標本内の中枢神経細胞樹状突起に、シナプス前終末がするのとほぼ同等な時間的空間的分布で、グルタミン酸を投与することに初めて成功した。この手法を用いて得られた機能的なグルタミン酸受容体の分布は、スパインの種類により異なり、シナプスの重みは樹上突起スパインの形態に蓄積される可能性が示唆された。局所的カルシウムシグナルによるグルタミン酸受容体分布の長期的調節は、脳内記憶の素過程と考えられているが、今後この空間分布の調査に威力を発揮するだろう。

## 中枢ニューロンにおける局所カルシウムシグナルとその役割

金沢大学医学部・狩野方伸

中枢神経系のニューロンは樹状突起、細胞体、軸索、シナプス終末から成る複雑な構造をしており、それぞれが伝達物質の受容とシナプス電位の発生、興奮性の決定と活動電位発生、活動電位の伝導、伝達物質放出など高度に機能分化している。細胞内カルシウムはこれらのすべてにおいて極めて重要な役割を演じている。したがって、

これらの機能を解明するためには、ニューロンのそれぞれの部位における局所カルシウムシグナルの性質とその制御機構を明らかにすることが不可欠である。本研究においては、シナプス伝達の修飾と可塑性の機構を明らかにするために、小脳プルキンエ細胞をモデルとして、樹状突起における局所カルシウムシグナルについて調べた。樹状突起の細胞内カルシウムストアは、興奮性シナプス活動に伴う細胞外から流入するカルシウムによって充填され、リアノジン受容体を介する細胞質への漏出によって調節されることが分かった。また、小脳のシナプス可塑性（長期抑圧）誘発には、プルキンエ細胞樹状突起スパイン内部における局所カルシウム放出が不可欠であることが明らかになった。この結果は、シナプス機能の調節には、シナプスの近傍 1  $\mu\text{m}$  程度の範囲の局所のカルシウムシグナルが決定的な役割を演ずることを示している。

#### 発表論文の抜粋

- Yamazawa, T. et al. **J. Biol. Chem.** 272:8161-8164, 1997  
Takeshima, H. et al. **EMBO J.** 17:3309-3316, 1998  
Okada, H. et al. **J. Immunol.** 161:5129-5132, 1998  
Kano, M. et al. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.** 95:15724-15729, 1998  
Miyakawa, T. et al. **EMBO J.** 18:1303-1308, 1999  
Hashimoto, A. et al. **J. Biol. Chem.** 274:11203-11208, 1999  
Nishi, M. et al. **J. Cell Biol.** 147:1473-1480, 1999  
Hashimoto, K. et al. **J. Neurosci.** 19:6027-6036, 1999  
Hirose, K. et al. **Science** 284:1527-1530, 1999  
Kakizawa, S. et al. **J. Neurosci.** 20:4954-4961, 2000  
Tsubokawa, H. et al. **J. Neurosci.** 20:2878-2884, 2000  
Takeshima, H. et al. **Mol. Cell** 6:11-22, 2000  
Miyata, M. et al. **Neuron** 28:233-244, 2000  
Maeda, H. et al. **Neuron** 24:989-1002, 2000  
Furuya, S. et al. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.** 97:11528-11533, 2000  
Ichise, T. et al. **Science** 288:1832-1835, 2000  
Hashimoto, A. et al. **J. Immunol.** 166:1003-1008, 2001  
Nemoto, T. et al. **Nature Cell Biol.** 3:253-258, 2001  
Miyakawa, T. et al. **EMBO J.** 7: 1674-1680, 2001