

1. 所属機関・職名・氏名：国立医薬品食品衛生研究所薬理部・主任研究官・入江 智彦
2. 研究課題名：スパイクタイミング依存的シナプス可塑性は、樹状突起上のKv1.4チャンネルにより、どのようにコントロールされるのか？ -2光子励起顕微鏡とパッチクランプ法を用いた生理学的研究-
3. 米国側研究機関・共同研究者：Oregon Health & Science University, Oregon Hearing Research Center & Vollum Institute・Laurence O. Trussell
4. 派遣期間：西暦2015年6月6日～2016年2月20日

5. 研究の概要、成果および意義（1000字）：

神経細胞の電氣的興奮性は、主にNav及びKvチャンネルの活性化により形成されており、自発発火パターンは呼吸・睡眠リズム、そして歩行などのリズム運動を生み出す中枢パターン発生、等の脳機能に重要な役割を果たしている。しかしながら、自発発火リズムの動的な変化を生み出す調節機構に関して、メカニズムは不明である。

ホ乳類聴覚神経回路において、中脳の聴覚神経核は聴覚伝導路を形成する一方、ここでの神経細胞の異常興奮は耳鳴を引き起こす。ここに存在するインターニューロンや紡錘細胞では、スパイクタイミング依存的シナプス可塑性が生じるが、この可塑的变化が耳鳴を誘発する原因であると示唆されている。このインターニューロンには、*in vitro*でも自発発火を示す興味深い特徴を持っているので、我々はこの神経細胞は自発発火パターン研究の優れたモデル細胞になると考えた。

C57/BL6マウスから新鮮脳幹スライス標本を作製し、*in vitro*パッチクランプ法及び、2光子励起顕微鏡を用いた*in vitro* Ca²⁺イメージング法を用い、自発発火パターンの調節メカニズム解明を行った。Ryanodine受容体阻害剤を投与した所、発火パターンが単純発火→バースト発火へと変化した。これに伴い、活動電位の過分極相に変化が生じた。この変化はシナプス入力を阻害した状況下でも生じたので、インターニューロンの内在的特性がRyanodine受容体阻害により変化を受ける事が分かった。Ryanodine受容体はCa²⁺誘発性Ca²⁺放出に関わる事から、Ca²⁺活性化Kチャンネルが調節を受けると推測した。そこでCa²⁺活性化Kチャンネル阻害剤の存在下で、Ryanodine受容体阻害剤を投与した所、変化は生じなかった。これより、活動電位によりトリガーされるCa²⁺誘発性Ca²⁺放出がCa²⁺活性化Kチャンネルを活性化する事で、自発発火パターンが調節される事が分かった。次に、どの細胞部位でCa²⁺誘発性Ca²⁺放出が生じているかを決定するために、2光子励起顕微鏡による*in vitro* Ca²⁺イメージングを行った。活動電位で誘発される細胞内Ca²⁺上昇を細胞体・軸索起始部・樹状突起で記録し、これに対するRyanodine受容体阻害の効果を検討した。その結果、細胞体のみでCa²⁺誘発性Ca²⁺放出が生じることが分かった。

この研究内容は、中枢神経に広く見られる自発発火によるリズム形成とその調節機構の理解に重要な所見になると考えられる。また、上記の内容を、ARO 39th Midwinter Meeting (San Diego, CA, 2016年2月) において発表した。

6. その他（実施上の問題点、特記事項）