

学位授与番号：甲 965 号

氏 名：永瀬 将志

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：平成 26 年 3 月 26 日

学位論文名：

モノカルボン酸トランスポーターを介した局所的エネルギー供給による興奮性シナプス伝達維持機構

主論文名：

On-site energy supply at synapses through monocarboxylate transporters maintains excitatory synaptic transmission.

(モノカルボン酸トランスポーターを介した局所的エネルギー供給による興奮性シナプス伝達維持機構)

学位審査委員長：教授 河合良訓

学位審査委員：教授 靱山俊彦 教授 井口保之

学 位 論 文 要 旨

論文提出者名	永瀬 将志	指導教授名	加藤 総夫
--------	-------	-------	-------

主論文: On-site energy supply at synapses through monocarboxylate transporters maintains excitatory synaptic transmission.

(モノカルボン酸トランスポーターを介した局所的エネルギー供給による興奮性シナプス伝達維持機構)

(The Journal of Neuroscience, in press, 2014 年)(IF, 6.91)

ニューロンの活動維持には多くのエネルギーが必要とされる。ニューロンは自身でグルコースを取り込むが、ニューロンの活動は高エネルギー消費であるため、ニューロンの活動維持はアストロサイトによるエネルギー供給に大きく依存する。アストロサイトで産生されたラクテートはニューロンに輸送されて ATP 産生の基質となる。このラクテート供給の機能分子であるモノカルボン酸トランスポーター (MCT) はシナプス近傍に局在する。しかし、ニューロンの活動、特に最もエネルギーを消費するシナプス伝達を維持するために MCT を介したラクテート供給が担う役割は大部分未解明である。そこで MCT および MCT によって輸送されるラクテートの生理的意義を明らかにするために、脳幹スライス標本を用いて、MCT が発現する孤束核ニューロンからホール・セル記録を行い、ニューロンの活動に及ぼす MCT 阻害薬の効果解析した。

MCT 阻害薬 (α -cyano-4-hydroxycinnamic acid (4-CIN), phloretin および D-lactate) は興奮性シナプス後電流 (eEPSC) の振幅を著明に減少させた。この eEPSC 振幅の減少は放出確率の低下を伴わなかった。4-CIN の eEPSC 減少作用の細胞内エネルギー依存性を検討するために、パッチ内液 ATP 非存在下において 4-CIN を投与した。ATP 非存在下、4-CIN は ATP 存在下よりも著明に eEPSC を減少させたが、この差異は細胞内ラクテート添加条件下では観察されなかった。次に、細胞外グルコース除去に及ぼす細胞外ラクテートの影響を評価した。グルコース除去は eEPSC を著明に減少させたが、細胞外ラクテート投与によってこの減少は抑制され、このレスキュー効果は 4-CIN によって消失した。また、4-CIN は NMDA 受容体を介した eEPSC を、AMPA 受容体を介した eEPSC と同程度に減少させた。一方、4-CIN は抑制性シナプス伝達、膜電位および活動電位に著明な影響を及ぼさなかった。また、4-CIN は低親和性 AMPA 受容体アンタゴニストである γ -D-glutamylglycine の EPSC 減少作用を増大させた。

以上の結果から、ニューロンがグルコースを十分に利用できる状況にあっても、興奮性シナプス伝達の維持は MCT 依存的ラクテート輸送に大きく依存することが明らかとなった。本研究はシナプスの機能がシナプス周囲アストロサイトによるエネルギー供給に依存すること、そして、正常な脳機能の維持にニューロン-アストロサイト間のシナプス局所的エネルギー共生が必須であることを示すものである。

論文審査の結果の要旨

永瀬将志氏の学位申請論文は、主論文1冊1編および参考論文3冊3編から成ります。主論文の日本語題名は、「モノカルボン酸トランスポーターを介した局所的エネルギー供給による興奮性シナプス伝達維持機構」であり、The Journal of Neuroscience 誌(IF, 6.91)に掲載されたものです。指導教官は、神経生理学（細胞統合神経科学専攻）・加藤総夫教授です。ここでは、論文の内容の紹介と審査結果についてご報告申し上げます。

ニューロンの活動維持には多くのエネルギーが必要とされる。ニューロン活動維持のための高エネルギー消費を支えるために、ニューロンは、自身によるグルコース取り込み以外に、アストロサイトによるエネルギー供給に大きく依存する。アストロサイトで産生されたラクテートはニューロンに輸送されて ATP 産生の基質となる。このラクテート供給の機能分子であるモノカルボン酸トランスポーター (MCT) はシナプス近傍に局在する。しかし、ニューロンの活動、特に最もエネルギーを消費するシナプス伝達を維持するために MCT を介したラクテート供給が担う役割は大部分未解明である。そこで MCT および MCT によって輸送されるラクテートの生理的意義を明らかにするために、脳幹スライス標本を用いて、MCT が発現する孤束核ニューロンからパッチクランプ・ホールセル記録を行い、ニューロン活動に及ぼす MCT 阻害薬の効果を解析した。

MCT 阻害薬は興奮性シナプス後電流の振幅を著明に減少させた。この電流振幅減少は伝達物質放出確率低下を伴わなかった。この振幅減少作用の細胞内エネルギー依存性を検討するために、電極内液 ATP 非存在下において阻害薬を投与した。ATP 非存在下、この阻害効果は ATP 存在下よりも著明であったが、この差異は細胞内ラクテート添加によって消失した。次に、細胞外グルコース除去に及ぼす細胞外ラクテートの影響を評価した。グルコース除去は著明に電流振幅を減少させたが、細胞外ラクテート投与によってレスキューされた。このレスキュー効果は MCT 阻害薬によって消失した。また、MCT 阻害薬は NMDA 受容体を介した興奮性電流を、AMPA 受容体の場合と同程度に減少させたが、抑制性シナプス伝達には著明な影響を及ぼさなかった。

以上の結果から、ニューロンは、グルコースを十分に利用できる状況にあっても、興奮性シナプス伝達の維持のために MCT 依存的ラクテート輸送に大きく依存することが明らかとなった。本研究は、シナプス機能がシナプス周囲アストロサイトによるエネルギー供給に依存すること、そして、正常な脳機能の維持にニューロン-アストロサイト間のシナプス局所的エネルギー共生が必須であることを示すものである。

以上の学位申請論文内容の口頭発表に対して、去る平成26年3月5日、靱山俊彦教授ならびに井口保之教授、加藤総夫教授のご臨席のもと公開論文審査会が開催されました。席上、各教授から、MCT 阻害薬に関して、血管系組織や孤束核ニューロンの電流振幅以外の電気生理学的特性に対する影響はどれくらいあるのか、また、臨床応用を含めた今後の研究展望などに関する質問・指摘があり、永瀬氏は、これらの質問に対して的確な回答をしました。よって、両教授との慎重審議の結果、永瀬氏の学位申請論文は、その価値十分と判断しました。