

# 平成15年度自治医科大学研究奨励金研究成果報告

## 小脳依存性運動学習での $Ca^{++}$ 依存型プロテインキナーゼ C サブタイプの機能的役割

(元)生理学講座神経脳生理学部門 首藤 文洋

細胞内セカンドメッセンジャーとして細胞の様々な機能に関与するプロテインキナーゼ C (PKC)には複数のサブタイプがある。しかし、そのサブタイプの機能的差異は知られていない。本研究ではプルキンエ細胞には  $\alpha$  (PKC $\alpha$ ) と  $\gamma$  (PKC $\gamma$ ) の 2つのサブタイプの  $Ca^{++}$ 依存型 PKCがあることに注目し、PKC $\gamma$  遺伝子欠損マウスを用いてサブタイプ個々の機能的差異を検討した。

運動学習の原因として考えられている小脳プルキンエ細胞の長期抑圧 (LTD)には PKC が必須であることが知られている。PKC $\gamma$  の遺伝子欠損マウスには顕著な運動失調や自発眼振などの小脳症状が見られるが、スライス標本を使った実験で長期抑圧が正常に起こることが報告されている。これらのことは PKC の  $\alpha$  と  $\gamma$  のサブタイプが長期抑圧を含む広汎な小脳の機能に多様な役割を演じていることを示している。

### 1. PKC $\gamma$ 遺伝子欠損マウスの眼球運動反射の動特性と適応

頭が動いたときにその動きを補正する眼球反射である水平性前庭動眼反射 (HVOR) や、視野の動きによって生じる水平性視機性眼球反応 (HOKR) の動特性および 1 時間の連続刺激による適応を計測した。これらの眼球反射は小脳片葉と脳幹の単純な神経回路で駆動され、短時間で眼球運動に適応を生じるので運動学習のモデルとされている。HVOR は暗環境でマウスを載せた回転台を、また HOKR はマウス前面でチェックパターンのスクリーンをそれぞれ正弦波状に動かして、引き起こされた眼球運動をビデオカメラとコンピューターシステムで解析した。遺伝子欠損マウスでは野生型に比べて HOKR の動特性に低下がみられ、HVOR の動

特性には変化がなかった。HOKR の適応では遺伝子欠損マウスは網膜誤差が大きい条件 (スクリーンの動きが速い) では適応を生じなかったが、網膜誤差が小さい条件 (スクリーンの動きが遅い) では適応を生じた。

### 2. PKC 阻害薬の HOKR の適応に対する影響

全ての PKC を阻害する chelerythrine を片葉に局所的に投与したところ、遺伝子欠損マウスおよび野生型とも HOKR の適応が障害された。また、HOKR の適応に必須と考えられている  $Ca^{++}$ 依存型 PKC のうち片葉では  $\alpha$  型と  $\gamma$  型だけが発現していることを免疫組織化学的に確認した。これらの結果から HOKR の適応には PKC $\alpha$  が必須で、PKC $\gamma$  は適応を起こす条件設定に関与することが示唆された。

### 3. PKC $\gamma$ 遺伝子欠損マウスの小脳プルキンエ細胞の入力と出力の性質

閃光刺激に対する片葉での細胞外電位と片葉の電気刺激に対する眼球の運動を調べた結果、遺伝子欠損マウスと野生型反応に差が見られなかった。片葉に神経線維のトレーサーを注入し片葉への入力線維と出力線維を形態学的に観察したが差異はみられなかった。これらのことから PKC $\gamma$  遺伝子欠損マウスで HOKR に関わる神経回路は機能的・形態的に異常がないことが示された。

本研究では HOKR の適応の発現には  $\alpha$  型が必須であり、 $\gamma$  型はそれに調節的に機能していると結論して、 $Ca^{++}$ 依存型 PKC サブタイプには機能的な役割の違いがあることを明らかにした。このことは細胞の機能発現に対する PKC サブタイプの存在意義を示すとともに、運動失調の病態に PKC などの細胞内分子のサブタイプ特異的な異常が関与している可能性を示唆している。今後は遺伝子欠損マウスでスクリーン刺激による片葉への登上線維入力の変化の有無などを検討して PKC $\gamma$  の機能的役割をさらに具体的に明らかにしていきたい。