

小脳プルキンエ細胞の樹状突起形成におけるリアノジン受容体の機能解析

大橋 令¹, 坂田 真一¹, 平嶋 尚英¹, 〇田中 正彦¹(¹名市大院薬)

【目的】小脳形成過程においてプルキンエ細胞は著しく樹状突起を発達させ、多数の顆粒細胞との間にシナプスを形成する。プルキンエ細胞の樹状突起形成にカルシウムシグナリングが重要であることが知られているが、細胞内カルシウム放出チャネルであるリアノジン受容体 (RyR) の役割は不明である。そこで我々は、培養プルキンエ細胞において種々の方法を用いて樹状突起形成における RyR の機能を解析した。

【方法】マウス新生仔から小脳を摘出し、パパイイン処理によって細胞を分散させ、培養した。Ryanodine (10 μ M) を培地に添加することによって RyR の機能を阻害したり、RyR の siRNA を単一細胞エレクトロポレーション法 [1] によってプルキンエ細胞に導入することによって RyR の発現を抑制し、樹状突起形成への影響を観察した。また、caged glutamate を用いた刺激による細胞内カルシウム濃度上昇をカルシウム蛍光指示薬 fluo-3 を用いて測定した。

【結果・考察】Ryanodine 添加によってプルキンエ細胞の樹状突起形成が顕著に抑制された。Ryanodine は glutamate 刺激による細胞内カルシウム濃度上昇を抑制した。RyR1 と RyR2 の siRNA 導入によっても樹状突起形成が抑制されたが、その効果は ryanodine 添加よりも弱かった。顆粒細胞も RyR2 を発現しており ryanodine 添加によって影響を受ける可能性があるため、顆粒細胞からの放出因子である BDNF を ryanodine とともに添加したところ、ryanodine による樹状突起形成抑制が部分的に回復した。プルキンエ細胞と顆粒細胞で発現する RyR が、ともにプルキンエ細胞樹状突起形成に重要であることが示唆された。

[1] Tanaka et al. (2009) *J. Neurosci. Meth.* 178: 80-86.