OUKA
Osaka University Knowledge Archive

Title	ニワトリ胚大脳解離培養系における興奮性シナプス伝達の長期的増強現象の解析
Author(s)	工藤, 卓
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3144304
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

Osaka University

【 20 】

氏名	工藤（くどう） 卓（すぐる）
博士の専攻分野の名称	博士（理学）
学位記番号	第 14078 号
学位授与年月日	平成10年6月22日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	ニワトリ胚大脳解離培養系における 興奮性シナプス伝達の長期的増強現象の解析
論文審査委員	（主査） 教授 葛西 道生 （副査） 教授 村上富士夫　教授 藤田 一郎 客員助教授 田口 隆久

論文内容の要旨

本研究では，大量培養が容易で，シナプス可塑性に関与する分子の探索が容易なニワトリ胚解離培養系を確立し，この培養系で誘導されるシナプス伝達効率の長期的増強の特性を明らかにした。シナプス伝達効率の増強の解析には，自発性シナプス後電流（SEPSCs）を記録し，その3分間の平均振幅をシナプス伝達効率の指標として用いた。

SEPSCsの平均振幅は，15分間の一時的なMg^{2+}-free条件により増大し，少なくとも1時間30分以上の長期にわたって持続した。このSEPSCs増強はシナプス活動に依存し，NMDA型グルタミン酸受容体の活性化を必要とした。また，SEPSCsの増強を発現するために，タンパク質キナーゼCの活性化と，15分間のMg^{2+}-free条件の間にmRNA，タンパク質が新規に合成されることが必須であることを明らかにした。また，このタンパク質合成は少なくともシナプス後細胞において必須であった。微小シナプス後電流（mEPSCs）解析の結果から，増強はシナプス部位の増大もしくは伝達物質放出確率の上昇によって引き起こされることを示した。さらに，グリア除去培養系に於いてもSEPSCs増強が誘導されたことから，グリア細胞は必須ではないことが示された。

増強を誘導した記録外液から条件付け外液（conditioned medium；CM）を調製し，このCM中に増強を誘導する拡散性因子が含まれていることを発見した。このCMは熱処理，トリプシン処理により増強誘導活性を失ったことから，CMに含まれる増強因子はタンパク質性のものであることが明らかとなった。また，限界ポアサイズを持つフィルターでCMを分画したところ，50 k-100 kのところに活性があった。タンパク質合成を阻害した状況でもCMはSEPSCs増強を誘導したことから，Mg^{2+}-free条件によるSEPSCsの増強には細胞外に放出されるタンパク質性のシナプス伝達効率促進因子が必須であり，これを放出するためのタンパク質合成が必要であると考えられる。

タンパク質合成がシナプス後細胞において必須であること，増強に伴うシナプス部位の増加が示唆されることからこのタンパク質性因子はシナプス後細胞で合成され，一種の逆行性伝達物質としてシナプス前細胞に作用するか，サイレントシナプスを有効なシナプスに転換する仮説が成りたつ。

論文審査の結果の要旨

脳における記憶や学習には，神経間の信号伝達を司るシナプスにおける伝達効率の変化が関与してると考えられている。シナプスにおける伝達効率の変化，すなわちシナプスの可塑性がどのような分子機構で起こるかを明らかにすることは現在における神経科学の最も重要な課題の１つである。

申請者は，大量培養が容易であり，シナプス可塑性に関与する物質の分子的探索が容易であるニワトリ胚解離培養系を確立し，この培養系において誘導されるシナプス伝達効率の長期的増強の特性を明らかにした。シナプス伝達効率の増強の解析には，自発性シナプス後電流（SEPSCs）の平均振幅を用いた。SEPSCs は，15分間の一時的な Mg^{2+}-free 条件により増大し，少なくとも１時間30分以上の長期にわたって持続することを見つけた。この SEPSCs の増強は，シナプス活動に依存し，NMDA 型グルタミン酸受容体の活性化を必要とし，タンパク質キナーゼＣの活性化と，Mg^{2+}-free 条件の間における mRNA およびタンパク質のシナプス後細胞における新規な合成が必須であることを明らかにした。さらに，グリア除去培養系に於いても SEPSCs 増強が誘導されることを示し，この増強にはグリア細胞は必須ではないことを明らかにした。

次に，増強を誘導した記録外液から条件付け外液（CM）を調製し，この CM 中に増強を誘導する拡散性因子が含まれていることを発見した。この CM は熱処理やトリプシン処理をすることで増強誘導活性を失うことから，CM に含まれる増強因子はタンパク質性のものであり，限界ポアサイズを持つフィルターを用い50 k-100 k の分子量を持つことを示した。更に，タンパク質合成を阻害した条件下でも CM は SEPSCs 増強を誘導することを示した。以上のことから，このタンパク質性因子はシナプス後細胞で合成され，一種の逆行性伝達物質としてシナプス前細胞に作用するか，サイレントシナプスを有効なシナプスに転換するとする仮説が成りたつことが示された。

以上のように，本論文は神経細胞におけるシナプスの可塑性の分子機構の解明に重大な貢献をするものであり，博士（理学）の学位論文として価値のあるものと認める。