



Title	Effects of an Inhibitor for Calcium/Calmodulin-dependent Protein Phosphatase, Calcineurin, on Induction of Long-term Potentiation in Rat Visual Cortex.
Author(s)	船内, 正裕
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38942">https://hdl.handle.net/11094/38942</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href=" <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> ">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏 名	ふな うち まさ ひろ 船 内 正 裕
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 11245 号
学位授与年月日	平成 6 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科生理系専攻
学 位 論 文 名	Effects of an Inhibitor for Calcium/Calmodulin-dependent Protein Phosphatase, Calcineurin, on Induction of Long-term Potentiation in Rat Visual Cortex. (ラット視覚野における $\text{Ca}^{2+}$ /カルモデュリン依存性蛋白質フォスファターゼ、カルシニューリンの抑制によるシナプス長期増強誘発の促進)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 津本 忠治 (副査) 教 授 三木 直正 教 授 柳原 武彦

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### (目的)

海馬や大脳新皮質などにおいて、入力線維束を高頻度刺激するとその後シナプスの伝達効率が長期的に増強することがある。この現象はシナプス伝達の長期増強 (Long-term potentiation, LTP) と呼ばれ、記憶・学習あるいは神経回路の入力による変化の基礎過程と想定されている。近年、この LTP の誘発にはシナプス後部の  $\text{Ca}^{2+}$  濃度上昇によって賦活される種々の蛋白質キナーゼが重要な役割を演じていることが明らかになってきた。しかし、同じくシナプス後部に存在し蛋白質キナーゼに拮抗していると想定されている蛋白質フォスファターゼの役割に関しては、全く不明である。本研究では、 $\text{Ca}^{2+}$  によって賦活される蛋白質フォスファターゼ 2B (カルシニューリン) の役割を調べるために、最近カルシニューリンの活性を阻害することが明らかとなった FK506 を用いた。この FK506 を視覚野ニューロンに投与することにより、LTP 誘発におけるカルシニューリンの役割を検討した。

#### (方法)

生後 20 日から 40 日の幼若 SD ラットの大脳皮質視覚野より、厚さ約 400  $\mu\text{m}$  の脳切片標本を作成した。95%  $\text{O}_2$  / 5%  $\text{CO}_2$  で飽和した Krebs-Ringer 液 ( $32^\circ\text{C}$ ) で 1 時間以上インキュベートした後、切片を記録槽に移し同様の Krebs-Ringer 液で灌流した。切片標本の白質に刺激電極を置き 1 秒間隔でテスト刺激を与えた、それによって生じた II / III 層ニューロンの反応を細胞外電極および細胞内電極から記録した。多くの実験では FK506 は灌流液から投与し、テタヌス刺激は 5 Hz で 1 分間、白質に与えた。細胞内電極を用いた記録では、入力特異性を調べるために他の刺激電極を記録電極の近傍の I 層と II 層の境界部に設置した。この場合、テスト刺激は白質刺激と交互に各々 10 秒間隔で与えた。さらに一部の実験では、記録中の皮質ニューロンに FK506 細胞内電極から注入した。

#### (結果)

FK506 を  $1 \mu\text{M}$  で灌流液から投与した場合、白質の低頻度 (0.1 Hz) テスト刺激に対する II / III 層ニューロンの反応には、有意の変化は認められなかった。しかし、正常灌流液では LTP を惹起しないような短いテタヌス刺激 (6 秒間) でも LTP を誘発できるようになるという促進作用がみられた。また、正常灌流液において一定の頻度で LTP を起こす 1 分間のテタヌス刺激を与えた場合には LTP 誘発頻度の増大がみられた。次に、LTP が高頻度の入力を受けたシナプスにのみ誘発されるかどうかを調べるために、白質と I / II 層のテスト刺激に対する興奮性後シナプス電位 (EPSP) の記録を行った。その結果、白質へのテタヌス刺激後、同部位のテスト刺激に対する EPSP のみ増強すると

いう入力特異性がみられた。さらに、テタヌス刺激によって生じた変化がシナプス前部の変化によるものか後部の変化によるものかを検証するため、シナプス前部からの伝達物質放出增加によるとされている Paired Pulse Facilitation (PPF) に変化が見られるかどうかを検討した。50 ミリ秒間隔で 2 発刺激をおこなった時に見られた PPF 比は FK506 を投与しても、また LTP が出現した後も変化しなかった。さらに、シナプス後細胞へ FK506 を直接注入した場合、LTP の誘発確率の増大がみられた。これらの結果から、FK506 は主としてシナプス後細胞に作用し促通作用を及ぼすことが示唆された。

(総括)

カルシニューリンの選択的阻害剤である FK506 が視覚野の LTP 誘発を促進したことからカルシニューリンはその誘発を抑えていることが推測された。カルシニューリンは、自己リン酸化によって LTP 誘発に関与している  $\text{Ca}^{2+}$  / カルモデュリン依存性蛋白質キナーゼ II に拮抗しているとされているので、増強したシナプス伝達効率を元に戻す過程さらには長期抑圧の誘発に重要な役割を演じていることが推測された。

### 論文審査の結果の要旨

シナプス伝達の長期増強の誘発における蛋白質キナーゼの関与については多くの知見が集積されているが、蛋白質フォスファターゼの役割に関しては全く不明であった。本研究は、 $\text{Ca}^{2+}$  / カルモデュリン依存性のフォスファターゼであるカルシニューリンを特異的に阻害することが近年明らかとなった FK506 をラット大脳皮質視覚野切片標本に投与することにより、カルシニューリンが長期増強の誘発にどのような役割を担っているかを調べたものである。FK506 を  $1 \mu\text{M}$  の濃度で灌流液より投与した場合、皮質 II / III 層神経細胞の白質テスト刺激に対する反応の長期増強誘発頻度が増加し、また、FK506 なしでは殆ど長期増強を誘発しないような短い高頻度刺激によっても長期増強が誘発されるようになった。さらに、FK506 細胞内注入実験等により、この長期増強はシナプス後部のメカニズムにより生じることが示唆された。

以上の結果は、カルシニューリンによる脱リン酸化反応がシナプス伝達効率の長期増強の誘発に関与していることを初めて明らかにしたものであり、学位に値する成果と考えられる。