



Title	An inhibitor for calcineurin, FK506, blocks induction of long-term depression in rat visual cortex
Author(s)	鳥居, 信夫
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40787
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="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名	とりのぶお 鳥 居 信 夫
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 3 6 7 8 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 10 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	An inhibitor for calcineurin, FK506, blocks induction of long-term depression in rat visual cortex (ラット大脳視覚野におけるカルシニューリン阻害薬, FK506のシナプス長期抑圧阻止作用)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 渡辺 恭良 (副査) 教 授 津本 忠治 教 授 三木 直正

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

シナプス長期抑圧 (Long-term depression, LTD) は、海馬では記憶・学習や忘却の素過程と想定されているが、生後発達初期の大脳皮質視覚野においては、長期増強 (Long-term potentiation, LTP) と同様に、適応的脳機能変化の基礎過程であると考えられている。

海馬及び大脳皮質視覚野における最近の研究では、LTP の誘発は N-methyl-D-aspartate (NMDA) 型グルタミン酸受容体チャネルや電位依存性カルシウムチャネルを介したシナプス後部へのカルシウム流入がトリガーとなっているとされている。一方、LTD 誘発には、LTP 誘発の場合より低いレベルのカルシウム上昇がその誘発へとつながることが示唆されており、このとき活性化される因子の一つとしてカルシウム／カルモデュリン依存性プロテインフォスファターゼ (カルシニューリン) が関与していると推測されている。そこで、本研究では、この仮説を検証するため、カルシニューリンの選択的阻害薬である FK506 が、幼若ラットの大脳皮質視覚野における LTD の誘発を阻止するかどうかを検討した。

【方法】

生後 20-30 日齢の幼若ラット大脳皮質視覚野より厚さ約 400 μm の脳切片標本作製した。この標本を、95% O_2 と 5% CO_2 の混合ガスで飽和した Krebs-Ringer 液 (32°C) で 1 時間以上インキュベートした後、同様の Krebs-Ringer 液灌流下で記録実験を行った。刺激は双極刺激電極を通じて IV 層に与え、このとき誘発される II/III 層のフィールド電位をガラス管微小電極から記録した。LTD の誘発には、低頻度テタヌス刺激 (1 Hz で 15 分) を用いた。誘発された LTD が標本や記録の状態の劣化によるものでないことを確認するため、また、誘発が入力特異的であることを示すため、コントロールとして別の刺激電極を IV 層に置き、この刺激に対する反応が LTD 誘発前後で変化していないかどうかを確認した。この際、これら二つの入力路を完全に分離するため、2 本の刺激電極の間に白質から IV 層にわたるスリットを入れた。LTD の有無は、テタヌス刺激後 29-30 分におけるフィールド電位のシナプス後成分の振幅平均値と、テタヌス刺激前の平均値とを比較することにより決定した。FK506 は、テタヌス刺激 10 分前から灌流液を介して投与した。

【成績】

10分前の安定した記録が得られた後、低頻度テタヌ刺激を一方の刺激電極から与えたところ、以前からの報告と同様、Ⅱ／Ⅲ層の反応が持続的に抑制され、LTDが誘発された。テタヌ刺激中止後29～30分の振幅平均値は $85.7 \pm 7.9\%$ ($n=12$)であった。このとき、コントロール側の反応には、有為な変化が認められなかったことから、このLTDは入力特異的に誘発されたと判定された。次に、FK506がLTD誘発に影響を与えるかどうかを検討した。以前の報告に従って、FK506を $1 \mu\text{M}$ の濃度で投与したところ、 0.1Hz のテスト刺激に対する反応には有為な変化はみられなかった。次に、 $1 \mu\text{M}$ のFK506灌流下で一側のⅣ層に低頻度テタヌ刺激を与えたところ、フィールド電位のシナプス後成分は一過性に減弱したが、10～15分ではほぼコントロール値へ回復した。テタヌ刺激中止後29～30分の平均値は $101.6 \pm 7.7\%$ ($n=10$)であった。すなわち、FK506灌流下ではLTDは誘発されなかった。

【総括】

FK506は細胞内蛋白質であるFK-binding proteins (FKBP) に結合してカルシニューリンの活性を抑えることが知られている。一方、FKBPとカルシニューリンはラットの大脳皮質視覚野に多量に存在していることも知られている。したがって、本実験で得られたFK506のLTD誘発阻止作用は、カルシニューリンの抑制によると考えられる。

馬海や視覚野におけるLTDの誘発には、脱リン酸化反応が関与しているのではないかと推測されている。4種類あるプロテインフォスファターゼの中で、カルシニューリンだけがカルシウム／カルモデュリンによって直接制御されていることから、LTDを起こす脱リン酸化過程の最初のステップはカルシニューリンの活性化である可能性が考えられる。このカルシニューリンの基質としては、シナプス受容体、あるいは他のプロテインフォスファターゼの活性を抑える働きのあるinhibitor-1が考えられるが、どちらであるのかは未だ不明である。これらの点は、今後の研究によって明らかにされるべき課題であると思われる。

論文審査の結果の要旨

シナプス長期抑圧 (Long-term depression, LTD) は、長期増強 (Long-term potentiation, LTP) と同様に、生後発達初期の大脳皮質視覚野における適応的脳機能変化の基礎過程であると考えられている。最近の研究から、LTDの誘発には、LTPの場合と同様に、シナプス後部へのカルシウム流入がトリガーとなっていると想定されている。このとき活性化される因子の一つとしてカルシウム／カルモデュリン依存性プロテインフォスファターゼ (カルシニューリン) が推測されていたが、実際に関与しているかどうかは明らかでなかった。本研究は、カルシニューリンの選択的阻害薬であることが最近明らかとなったFK506を使用し、ラット大脳皮質視覚野切片標本において、この仮説を検証した。その結果、FK506が $1 \mu\text{M}$ の濃度でLTDの誘発を阻止することを見い出した。この結果は、LTD誘発のカスケードの中に、カルシニューリンの活性化が関与していることを示しており、シナプス可塑性のメカニズム解明に重要な知見を提供したことになる。

以上、本研究より得られた知見は学位の授与に値するものと考えられる。