OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Brain-Derived Neurotrophic Factor Prevents Low-Frequency Inputs from Inducing Long-Term Depression in the Developing Visual Cortex
Author(s)	木下, 秀一郎
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41740
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、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	木下秀一郎（きのした しゅういちろう）
博士の専攻分野の名称	博士（医学）
学位記番号	第 15218 号
学位授与年月日	平成12年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科生理系専攻
学位論文名	Brain-Derived Neurotrophic Factor Prevents Low-Frequency Inputs from Inducing Long-Term Depression in the Developing Visual Cortex （発達脳視覚野における脳由来神経栄養因子の低頻度刺激誘発長期抑圧の阻止作用）
論文審査委員	（主査） 教授 津本 忠治 （副査） 教授 武田 雅俊　教授 福田 淳

論文内容の要旨

【目的】

脳由来神経栄養因子（Brain-Derived Neurotrophic Factor, BDNF）は、中枢神経系において神経細胞の分化、回路網形成および維持という長時間にわたる生理作用を持つことが、古くより知られていた。しかるに、最近、BDNFはシナプス長期増強の誘発等、比較的短時間に起きるシナプス伝達効率変化にも関与する事が示唆された。一方、発達脳視覚野では、シナプス長期抑圧（Long-term depression, LTD）が入力依存性の神経回路網変化、特に過剰投射の退縮やソーティングの初期過程として重要だと考えられている。我々は以前に、視覚野Ⅱ／Ⅲ層のフィールド電位を指標として、BDNFがLTDの誘発を阻止する作用を持つ事を見出した。しかしながら、フィールド電位は抑制性シナプス電位をも含む多数のシナプス電位や活動電位の総和であるから、その変化が興奮性シナプスにおける伝達効率の変化を忠実に示しているとは言い難い。従って、今回はホールセルパッチ法を用いて個々の神経細胞から記録される興奮性シナプス後電流（Excitatory postsynaptic current, EPSC）を指標としてBDNFの作用を調べた。

【方法ならびに成績】

生後13日－18日のSprague Dawleyラットの大脳皮質視覚野からスライス標本を作製した。Ⅳ層に設置した刺激電極からのテスト刺激に対するⅡ／Ⅲ層錐体細胞のEPSCを、ホールセルパッチで電位固定下に記録した。Ⅳ層刺激は従来LTDを誘発することが知られている1Hz、10分の連続刺激を用いたが、皮質細胞を－70mVに電位固定したままでは9個のうち8個の細胞でLTDを誘発できなかった。一方、皮質細胞の膜電位を刺激に合わせて100msecの間－30mVに脱分極させるというpairing刺激を用いると、調べた9個の細胞の全てでLTDを誘発できた。このことからLTD誘発にはシナプス後細胞の脱分極が必要であることが示された。

一方、BDNFを20ng／mlの濃度で灌流液から投与した場合、前述と同じ条件のpairing刺激を行っても9個のうち7個でLTDが誘発されなかった。ところが、BDNFの高親和性受容体であるTrkBのTyrosine Kinaseを阻害する薬物の中で、細胞膜透過性のあるK252aを併用すると、LTDが誘発された。このことから、BDNFによるLTD誘発阻止には、TrkB受容体を介してのTyrosine Kinaseの関与が示唆された。さらに、このBDNFの作用部位が前シナプスか後シナプスかを調べるため、細胞膜透過性のないTyrosine Kinase阻害剤K252bを記録中の細胞内に注入し後シナプスのTyrosine Kinaseのみ阻害したところ、BDNFの効果は有効でLTDは誘発されなかった。このこと

からBDNFのLTD誘発阻止の作用部位は前シナプスであることが示唆された。

次に、内因性BDNFが外因性BDNFと同様に、LTD誘発を阻止する働きがあるかどうかを調べた。もし同様の作用を持つとすれば、内因性BDNFを阻害すれば、LTDが誘発され易くなり、後シナプスの脱分極がなくてもLTDが誘発されることが考えられる。そこで、BDNF機能を阻止することが確認できたBDNF抗体をスライスに投与した後、pairingを用いず、1 Hzの低頻度刺激のみ使用したところ、本来誘発されないはずのLTDが誘発された。このことから、内因性BDNFがシナプス抑圧を防ぎ、シナプス伝達効率の維持物質として機能していることが示唆された。

【総括】

BDNFがLTDに関与している可能性と、そのメカニズムを調べるため、幼若ラット視覚野切片標本を用いて、Ⅳ層刺激に対するⅡ／Ⅲ層錐体細胞のシナプス反応を記録した。LTDはⅣ層刺激と同時にシナプス後細胞の膜電位を−30mVに脱分極させるというpairingを1 Hzで10分間繰り返す低頻度連続刺激によって誘発された。このLTDは外因性BDNFにより阻止されたが、この作用はシナプス前性であると考えられた。また、内因性BDNFの機能をその抗体により抑制すると、LTDが誘発され易くなった。以上の結果から、BDNFは低頻度連続入力によってシナプスが抑圧されることを防いでいると考えられた。

論文審査の結果の要旨

本研究は、幼若ラットの大脳皮質視覚野切片標本を用いて、脳由来神経栄養因子（Brain-derived neurotrophic factor，以下BDNFと略）のシナプス長期抑圧に対する作用を調べたものである。その結果、灌流液を通して投与した外因性のBDNFが、シナプス長期抑圧を阻止することを発見した。また、このBDNFの作用は、シナプス前のTrkB受容体を介することを示唆する知見を得た。さらに、特異的抗体による機能阻害実験及び、遺伝子欠損マウスを使った実験において、内因性のBDNFが欠如すると、本来シナプス長期抑圧が起こらない条件においても、シナプス長期抑圧が生じやすくなることを見い出した。以上の知見は、形成されつつある脳の神経回路網において、BDNFが未熟なシナプスや神経回路の維持に関与していることを示しており、神経回路の機能発達メカニズムの一端を明らかにしたものである。

以上より、本研究は、学位の授与に値するものと考えられる。