

Title	幼若ラット大脳視覚野における垂直及び水平シナプス伝達に対する脳由来神経栄養因子の選択的作用)
Author(s)	宇野, 里砂
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41808
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"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏 名	宇野 里 紗
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 5 2 1 7 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	幼若ラット大脳視覚野における垂直及び水平シナプス伝達に対する脳由来神経栄養因子の選択的作用
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 津本 忠治 (副査) 教 授 岡田伸太郎 教 授 福田 淳

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

Nerve Growth Factor (NGF) をはじめとする神経栄養因子は、ニューロンの突起伸展や生存維持といった慢性的作用だけでなく、シナプス伝達効率を急速に変化させるといった急性作用を示すことが近年報告されている。特に、脳由来神経栄養因子 (Brain-Derived Neurotrophic Factor, BDNF) は生後発達期の大脳視覚野において、シナプス長期増強 (Long-Term Potentiation, LTP) に関与していることが示唆されている。このLTPは、生後初期の視覚体験による大脳視覚野神経回路の可塑的变化の素過程と考えられている。大脳皮質視覚野の神経回路は、基本的には、いわゆるカラム内を縦に結ぶ垂直方向の結合と、II/III層内を横に広がる水平方向の結合からなっている。BDNFがシナプス伝達効率を急速に変化させるという従来の研究では、垂直方向のシナプス伝達についてのみ解析されてきた。そこで、本研究では、ラット大脳視覚野で、垂直方向のみならず水平方向のシナプス伝達についてもBDNFがどのような急性作用を示すかを検討した。特に、BDNFはシナプス前部からの伝達物質の放出を増加させることが示唆されているので、放出確率の変化の指標である2連発刺激 (対刺激) に対する反応の比 (Paired Pulse Ratio) に焦点を当て、シナプス伝達に対するBDNFの作用部位をも明らかにしようとした。

【方法】 生後7～9日齢のSprague Dawleyラットの大脳皮質視覚野に相当する部位を含む脳ブロックを切り出し、300～500 μ mの厚さのスライス標本を作製した。スライスは、人工脳脊髄液で灌流し、維持した。この灌流液の組成は以下のようにした (単位はmM)。NaCl 124、KCl 5、KH₂PO₄ 1.2、MgSO₄ 1.3、CaCl₂ 2.4、NaHCO₃ 26、glucose 10。視覚野皮質II/III層への垂直入力線維及び水平入力線維を刺激するため、双極刺激電極を記録部位から100～200 μ m離れた皮質IV層とII/III層にそれぞれ設置した。刺激は0.1msec幅の2連発パルス (30～50msec間隔) を0.1 HzでIV層とII/III層に交互に与えた。ホールセルパッチ電極の先端は位相差顕微鏡に設置した赤外線カメラで視覚的にモニターしながら、皮質II/III層錐体細胞の細胞体に置いた。Human recombinant BDNFは0.1%仔牛血清アルブミンを含んだリン酸緩衝液に溶解し、灌流液中で200ng/mlの濃度とした。まずコントロールのシナプス反応を10～30分間記録した後、BDNFを灌流液から投与し、変化の有無を20～30分間観察した。シナプス反応の記録はホールセルパッチクランプ電極法で、細胞体を-70mVに電位固定し、patch-clamp amplifier (Axopatch 200B, Axon Instruments) を用いて行った。

【成績】 大脳皮質視覚野II/III層の錐体細胞であると判定された7個の神経細胞から、II/III層及びIV層刺激に対

する興奮性後シナプス電流 (excitatory postsynaptic current, EPSC) を記録した。BDNF を200ng/ml の濃度で投与したところ、大多数の細胞ではIV層刺激に対する EPSC の振幅が5~10分後に持続的に増大した。IV層刺激に対する EPSC が記録できた6個の細胞の EPSC 振幅の平均値は BDNF 投与前が 14.0 ± 9.7 pA (mean \pm SD)、投与10~15分後が 19.3 ± 9.9 pA であった。この両者の差は統計学的に有意であった (paired t-test, $p < 0.05$)。一方、II/III層刺激に対する7個の細胞の EPSC の平均値は、BDNF 投与前が 23.1 ± 13.0 pA、投与10~15分後が 25.8 ± 10.3 pA であり、この場合は有意な増大は認められなかった。また、30~50msec 間隔の paired pulse 刺激に対して、2発目の反応の1発目の反応に対する比 (Paired Pulse Ratio, PPR) を解析したところ、IV層刺激に対する PPR の上昇が見られた。6個の細胞の平均 PPR は BDNF 投与前が 0.96 ± 0.07 (mean \pm SD) であったが、BDNF 投与後20分で 1.41 ± 0.18 と統計学的に有意に上昇した (paired t-test, $p < 0.05$)。ところがII/III層刺激に対する EPSC では、PPR の増大が見られなかった。7個の細胞の平均 PPR は BDNF 投与前が 1.06 ± 0.26 (mean \pm SD)、BDNF 投与後20分で 1.35 ± 0.30 であり、有意な差は見られなかった。

【総括】 BDNF がシナプス伝達効率を急速に増大させることは、すでに報告されていたが、それらは大脳視覚野では垂直方向のシナプス伝達に対する観察であった。本研究において、II/III層内の水平方向のシナプス伝達に対する作用も調べたところ、水平方向に対するシナプス伝達には BDNF は急性増強作用を示さないことが判明した。また、シナプス前部からの伝達物質放出確率の変化を反映する Paired Pulse Ratio を解析したところ、垂直方向のシナプス反応には有意な変化が見られたが、水平方向にはそのような変化が見られなかった。これらの結果から、少なくとも生後発達期の大脳皮質視覚野では、BDNF は主に垂直方向のシナプス結合に選択的に作用し、その伝達を増強する作用があることが判明した。この結果は、BDNF は生後発達期において大脳皮質のカラム内神経回路の強化に関与していることを示唆している。

論文審査の結果の要旨

脳由来神経栄養因子 (Brain-Derived Neurotrophic Factor, BDNF) は幼若ラットの大脳視覚野において、シナプス伝達を急速に増大させることが以前に報告されていた。しかし、これらは全て、白質や皮質IV層からII/III層への垂直方向のシナプス伝達に対する観察であった。大脳視覚野においては、垂直方向のシナプス結合のみならず、II/III層内の水平方向のシナプス結合も重要であることが知られている。本研究では、生後初期のラット大脳皮質視覚野のスライス標本を用い、垂直方向のみならず水平方向のシナプス結合に対して、BDNF が如何なる作用を持つかを調べた。その結果、BDNF は垂直方向のシナプス伝達を急速に増大するが、水平方向については、そのような作用を持たないことが判明した。また、シナプス前部の変化の指標とされる、paired pulse ratio やシナプス反応欠損確率を調べたところ、BDNF は垂直方向の結合のシナプス前部には有意な作用を示すが、水平方向の結合のシナプス前部には作用を示さないことも明らかとなった。以上、BDNF は発達初期の大脳視覚野において、垂直方向のシナプス結合に選択的に作用し、その伝達物質放出を増大する作用があることを見出した。垂直方向のシナプス結合は、いわゆる大脳皮質のカラム構造の基盤をなしているため、BDNF は生後初期の大脳皮質においてカラム形成の強化に関与していることが示唆された。

以上、本研究は、大脳視覚野の構造と機能の発達に及ぼす神経栄養因子の作用の一端を明らかにしたものであり、学位の授与に値するものと考えられる。