

Title	Level of Brain-derived Neurotrophic Factor and its Input-dependent Change in the Visual Cortex of Ferrets
Author(s)	一坂, 吏志
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/42639
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について こちら 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	いち 坂 吏 志
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 6 0 1 9 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 13 年 3 月 23 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科病理系専攻
学 位 論 文 名	Level of Brain-derived Neurotrophic Factor and its Input-dependent Change in the Visual Cortex of Ferrets. (フェレット視覚野における脳由来神経栄養因子タンパク質量とその入力依存的な変化)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 津 本 忠 治 (副査) 教 授 祖 父 江 憲 治 教 授 福 田 淳

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

発達期視覚野の神経回路の構造および機能は入力によって変化することが知られている。この入力依存性の変化に Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) に代表されるニューロトロフィンが関与していることが報告されている。例えば、仔ネコ視覚野における実験では BDNF と Neurotrophin-4/5 (NT-4/5) は眼優位コラム構造の形成を阻害したり、いったん形成されたコラムを拡大するという。また、BDNF や Neurotrophin-3 (NT-3) がフェレット視覚野の IV/VI 層の神経細胞樹状突起の成長に影響を及ぼすことも報告されている。これらの知見から、BDNF や NT-3 は視覚野神経回路が視覚入力に応じて変化することに直接関与していると考えられる。もしそうであるならば、視覚野におけるこれら神経栄養因子タンパク質量は、発達あるいは視覚入力の変化に応じて変わると想定される。本研究では、この想定を検証することを目的として、2 部位酵素免疫測定法を用いて、発達期と成熟期フェレット視覚野における BDNF および NT-3 タンパク質量を測定し、片眼入力あるいは両眼入力を遮断したフェレットの値と比較した。

【方法】

本研究では発達期（生後 38～46 日）と成熟期（生後 1～2 年）の sable ferret を用いた。一部の動物では網膜神経節細胞の視覚入力による活動および自発活動を阻止するために、ナトリウムチャンネルを阻害し、活動電位発生を抑える tetrodotoxin (TTX) を両方あるいは片方の眼球内に注入した。また、対照群にはリンゲル液を注入した。注入 24 時間後、脳を取り出し、さらに視覚野、体性感覚野、海馬、小脳に分離し、直ちに -80℃ で凍らせた。その後、BDNF 及び NT-3 を抽出するため、冷却下で、切り分けた組織を破碎し、46,000 g で 30 分間遠心後、上清を回収した。抽出した BDNF、NT-3 をポリスチレンビーズに付けた抗 BDNF、NT-3 抗体と結合させた。その後、別の抗 BDNF、NT-3 抗体から準備した、 β -D-galactosidase のついた Fab' フラグメントと結合させた。ビーズの galactosidase 活性を基質として 4-methylumbelliferyl- β -D-galactoside を用いて計測することにより、BDNF と NT-3 タンパク質量を測定した。

【成績】

1) BDNF および NT-3 量の発達期と成熟期の比較

発達期と成熟期フェレットの脳では 4 領域間で濃度変化に違いがみられた。例えば、海馬および小脳では

BDNF 量は成熟期の方が発達期より多かった。しかし、視覚野と体性感覚野では両者に有意な変化はみられなかった。一方、NT-3 タンパク質量は、視覚野だけでなく、すべての領域で成熟期の方が少なかった。

2) 両眼への TTX 投与による視覚野 BDNF 量の減少

発達期、成熟期のフェレットの両眼球内への TTX 投与により両眼からの視覚入力を遮断した後、BDNF タンパク質量を測定したところ、体性感覚野、海馬および小脳では有意な変化は無かったが、視覚野では発達期、成熟期共に減少していた。

3) 両眼への TTX 投与に対する NT-3 量の無変化

NT-3 タンパク質量が、両眼からの視覚入力遮断によって変化するかについても調べた。その結果、NT-3 タンパク質量の有意な変化は、発達期、成熟期フェレットのどの脳領域でも見られなかった。

4) 片眼への TTX 投与による BDNF 量の減少

両眼への TTX 投与による視覚入力遮断が視覚野 BDNF 量を減少させることから、次に片眼からの視覚入力遮断が BDNF 量を減少させるのか、また、そうであればどの程度減少させるのかについて発達期フェレットを用いて調べた。その結果、片眼からの視覚入力遮断は、両眼からの視覚入力遮断による減少量の約半分程度、BDNF 量を減少させることが判明した。さらに、発達期フェレットでは、同側眼からの視覚野への投射より対側眼からの投射の方が優位であることが知られているが、BDNF の減少量も対側視覚野の方が同側視覚野より有意に大きかった。

【総括】

視覚野において、NT-3 タンパク質量は、発達期に多く成熟期では減少するが、両眼からの視覚入力遮断では発達期・成熟期共に変化しないことが明らかとなった。

一方、BDNF タンパク質量は24時間のみの視覚入力遮断により減少すること、また、この入力依存的な変化が発達期のみでなく成熟期でもみられることが判明した。さらに、片眼からの入力遮断により、両眼からの入力遮断による減少量の半分程度の減少が起こること、また、左右視覚野での減少量に差があり、視覚入力を遮断された眼からの投射の多い側の視覚野で減少量が大きかったことから、大脳皮質内での BDNF タンパク質の発現は入力に左右されることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

脳由来神経栄養因子 (Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) とニューロトロフィン 3 (Neurotrophin-3、NT-3) は大脳皮質視覚野の可塑性に何らかの役割を果たすと考えられている。したがって、視覚野内のこれらの神経栄養因子量は視覚入力の変化にともなって変化すると予想される。この可能性を検証するため、フェレット視覚野における BDNF、NT-3 タンパク質量の視覚入力遮断による変化を 2 部位酵素免疫測定法を用いて測定した。その結果、両眼球内へのテトロドトキシン注入による24時間の視覚入力遮断によって、視覚野以外の脳領域では変化が無かったが、視覚野の BDNF タンパク質量は有意に減少した。一方、NT-3 タンパク質量は視覚野においても有意な変化はみられなかった。

これらの結果から、視覚野において BDNF タンパク質量が視覚入力によって制御されていることが示唆された。

以上、本研究は、発達期大脳皮質視覚野の構造と機能の可塑的变化に影響を及ぼす神経栄養因子の動態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。