



Title	Effects of Chronic Exposure of Brain-Derived Neurotrophic Factor on Synaptic Responses of Solitary Neurons Cultured from Rat Visual Cortex
Author(s)	高田, 直樹
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/42657
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	たか だ なお き 高 田 直 樹
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 6 0 2 0 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	Effects of Chronic Exposure of Brain-Derived Neurotrophic Factor on Synaptic Responses of Solitary Neurons Cultured from Rat Visual Cortex (脳由来神経栄養因子の慢性投与がラット視覚野孤立培養ニューロンのシナプス反応に及ぼす効果)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 津 本 忠 治 (副査) 教 授 福 田 淳 教 授 三 木 直 正

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

脳由来神経栄養因子 (Brain-derived neurotrophic factor, BDNF) はニューロンの生存維持・分化・神経突起の伸長などに重要な役割を担っていると考えられている。さらに近年、BDNF が様々なシナプス可塑性にも関与していることが明らかとなってきた。発達期の大脳皮質視覚野においても、BDNF の慢性投与が眼優位コラムの形成阻害や再拡大を引き起こしたり、BDNF の急性投与がシナプス伝達を増強することやシナプス長期抑圧を阻止することが報告されている。しかしながら、このような BDNF のシナプス反応に対する急性効果が慢性的な効果とどのように結び付いているのかについては未だ明確ではない。本研究では、BDNF の慢性投与が個々のニューロンのシナプス反応にどのような影響を与えるのか、さらに、急性投与で見られるシナプス伝達の変化がどのように長期的な変化と結び付いていくのかを明らかにしようとした。そのため、ラットの大脳皮質視覚野ニューロンの孤立培養標本に BDNF を慢性投与し、ホールセル・パッチクランプ法および蛍光イメージング法を用いて解析を行った。

【方法ならびに成績】

生後 0 - 1 日齢の SD ラットの脳皮質視覚野から作成した孤立神経細胞培養標本の約半数に 100ng/ml の BDNF を慢性的に投与し続け、培養 8 - 12 日の間に記録を行った。

シナプス反応を評価するため、ホールセル・パッチクランプ法を用いて孤立培養ニューロンから α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionate (AMPA) 型グルタミン酸受容体由来の興奮性シナプス後電流 (excitatory postsynaptic current, EPSC) の記録を行った。脱分極パルスを経細胞体に注入して誘発 EPSC (evoked EPSC) の記録を行ったところ、多くの場合において BDNF 投与群でより大きな evoked EPSC が観察された。平均して、コントロール群で 1.87 ± 0.18 (SEM) nA であるのに対し、BDNF 投与群では 2.74 ± 0.20 nA と有意 ($p < 0.01$, unpaired t -test) に増大した。また、自発的に発生する微小 EPSC (miniature EPSC) の記録を行ったところ、BDNF を慢性投与した細胞では miniature EPSC の頻度が有意 ($p < 0.001$, unpaired t -test) に増大した (コントロール群: 2.7 ± 0.4 回/秒 (mean $\pm$ SEM)、BDNF 投与群: 5.9 ± 0.6 回/秒)。一方、miniature EPSC の振幅については軽度であるが有意 ($p < 0.005$, unpaired t -test) な減少が見られた (コントロール群: 19.3 ± 0.9 pA (mean $\pm$ SEM)、BDNF 投与群: 15.9 ± 0.7 pA)。

さらに、BDNF の慢性投与による evoked EPSC の増大がシナプス数の増加によるものかについて調べるため、機

能的なシナプス部位を標識できる蛍光色素 FM 1-43 を用いて染色を行った。その結果、BDNF 投与群において FM 1-43 でより多くの領域が染色された（コントロール群： $1.8 \pm 0.3\%$ (mean $\pm$ SEM)、BDNF 投与群： $3.5 \pm 0.5\%$ 、この差は $p < 0.005$ 、unpaired t -test で有意）。しかし、染色領域の平均蛍光強度については両者の間で変化は見られなかった。

これらの結果から、慢性投与した BDNF は初期においては、急性投与の実験で報告されているように、伝達物質の放出確率の増大を引き起こすと考えられるが、長期的にはそれに加えてシナプスの数を増加させることにより、シナプス反応をさらに増大させるのではないかと考えられる。

【総括】

BDNF の慢性投与がラット大脳皮質視覚野から培養した孤立ニューロンのシナプス反応にどのような影響を及ぼすかを調べた。その結果、BDNF の慢性投与によって AMPA 型グルタミン酸受容体由来の evoked EPSC の増大が認められた。また、miniature EPSC の頻度の増大も見られたが、その振幅は減少した。さらに、機能的なシナプス部位を選択的に染色する蛍光色素を用いて調べたところ、BDNF 投与群でより多くの機能的シナプスが認められた。これらの結果から、慢性投与した BDNF は主に機能的シナプスの数を増加させることによってシナプス反応を増大し、その結果、興奮性のシナプス結合を強化す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) が発達期の大脳皮質視覚野のシナプス伝達を急速に変えることが近年明らかとなってきた。しかしながら、このような急性投与で見られるシナプス伝達の変化がどのように長期、慢性的な変化と結び付いていくのかについては未だ明らかではない。本研究では、ラット大脳皮質視覚野から培養した孤立ニューロンのシナプスに対して BDNF の慢性投与がどのような影響を及ぼすかを調べた。その結果、BDNF の慢性投与によってグルタミン酸受容体を介する誘発シナプス反応の増大が認められた。また、自発性シナプス反応の頻度の増大も見られたが、その振幅は軽度減少した。この結果は未熟なシナプス数の増加を示唆すると考えられた。さらに機能的なシナプス部位を選択的に染色する蛍光色素を用いて調べたところ、BDNF 投与群でより多くの機能的シナプスが認められた。これらの結果から、慢性投与した BDNF は主に機能的シナプスの数を増加させることによって誘発シナプス反応を増大し、その結果、興奮性のシナプス結合を強化す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シナプス可塑性における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。