

Title	Brain-derived Neurotrophic Factor (BDNF) Enhances Depolarization-induced Glutamate Release through Activation of Phospholipase C- γ and Mitogen-activated Protein Kinase
Author(s)	松本, 知也
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	https://hdl.handle.net/11094/44053
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	まつもとともや 松本知也
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 17550 号
学位授与年月日	平成 15 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科生物科学専攻
学位論文名	Brain-derived Neurotrophic Factor (BDNF) Enhances Depolarization-induced Glutamate Release through Activation of Phospholipase C- γ and Mitogen-activated Protein Kinase (脳由来神経栄養因子 (BDNF) は、PLC- γ 及び MAPK 経路の活性化を介して脱分極刺激に伴うグルタミン酸放出を増強する)
論文審査委員	(主査) 教授 小倉 明彦 (副査) 教授 吉川 和明 教授 岡田 雅人 系長 田口 隆久

論文内容の要旨

脳由来神経栄養因子 (BDNF) はシナプス可塑性に対して重要な役割を持っていると考えられているが、その詳細なメカニズムは明らかにされていない。シナプス前細胞で脱分極が起こると軸索末端から神経伝達物質が放出されるが、私は、その伝達物質の放出効率を BDNF が高めるのではないかと考え、以下のことを明らかにした。

1) BDNF 短期処理での開口放出の増強作用

生後 2 日齢ラットより培養した大脳皮質ニューロンを用いて脱分極刺激に伴って放出されるグルタミン酸の量を HPLC で測定した。その結果、培養ニューロンに BDNF を 10 分間処理することによって脱分極刺激で引き起こされるグルタミン酸放出が顕著に増強されることを見出した。このグルタミン酸放出の増強作用には、BDNF の特異的なレセプターである TrkB の活性化が必要であること、また、蛋白質及び RNA の合成は必要でないことを確認した。

次に Ca^{2+} 感受性色素を培養ニューロンに負荷し、共焦点レーザー顕微鏡下で細胞内 Ca^{2+} の動態への BDNF による影響を観察した。その結果、脱分極刺激に伴う細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇が BDNF によって顕著に増大した。この BDNF による Ca^{2+} 上昇幅の増大は、細胞内 Ca^{2+} ストア内の Ca^{2+} 枯渇剤 (タプシガーギン) によって抑えられた。このことから、BDNF による Ca^{2+} 上昇幅の増大には細胞内ストアからの Ca^{2+} 放出が関与していることがわかった。さらに BDNF によるグルタミン酸放出の増強作用もタプシガーギン及び IP_3 レセプターの阻害剤によっても抑制されることがわかった。これらの結果は、BDNF による開口放出の増強には IP_3 レセプターを介した細胞内ストアからの Ca^{2+} 放出が必要であることを示している。

BDNF の特異的なレセプターである TrkB の下流シグナルの 1 つである PLC- γ 経路は、 IP_3 を産生することで知られている。そこで PLC- γ の阻害剤である U73122 を用いたところ、グルタミン酸放出の増強が U73122 で完全に抑制された。従って BDNF は、TrkB-PLC- γ 経路を介して細胞内 Ca^{2+} ストアより Ca^{2+} を放出させることによってグルタミン酸放出を増強していると考えられる。(Matsumoto et al., *J. Neurochem.*, 2001)

2) BDNF 長期処理での開口放出の増強作用

1)と同じ培養系を用いて、神経伝達物質放出への BDNF の長期的な作用について解析をすすめた。BDNF を 24 時間処理することにより脱分極刺激に伴うグルタミン酸放出が増強された。興味深いことにこの長期 BDNF 処理による増強作用には、前述の PLC- γ 経路だけでなく MAPK 経路が重要であり、新規蛋白質の合成を必要とすることが分かった。BDNF がエキソサイトーシスメカニズムを増強していることから、BDNF がエキソサイトーシスに重要なシナプス関連蛋白質の発現レベルを制御している可能性を考えた。ウエスタンブロット法によりシナプトフィジン及びシナプトタグミンの発現レベルを調べたところ、BDNF はこれらシナプス関連蛋白質の発現を顕著に増加させることが分かった。さらにこの発現上昇には、PLC- γ 経路及び MAPK 経路の活性化が必要であることを見いだした。

これらの結果から、BDNF は、PLC- γ 経路及び MAPK 経路の活性化を経て開口放出系に必要な蛋白質を増加させることにより、脱分極刺激に伴うグルタミン酸の放出を増強させている可能性が高い。

論文審査の結果の要旨

松本知也君は、従来神経細胞の生存・維持に関与するとされていた脳由来神経栄養因子 (BDNF) が、シナプスでの神経伝達物質 (グルタミン酸) 放出を短期および長期に修飾することを見出し、この分子がシナプス可塑性にも関与する可能性を示した。また、そのグルタミン酸放出修飾作用が、短期効果ではホスホリパーゼ γ 経路で細胞内貯蔵カルシウムを動員する機構、長期効果では MAP キナーゼ経路で開口放出装置タンパク質の新合成を促す機構によることを示した。これらの成果は、BDNF の作用研究とシナプス可塑性の機構研究とに新たな視点を提供するものであり、博士 (理学) の学位論文として価値のあるものと認める。