

Title	Survival of Cerebellar Neurons by Presynaptic Inputs
Author(s)	森田, 大樹
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/45101">https://hdl.handle.net/11094/45101</a>
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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a>〉</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	もり た だい じゅ 森 田 大 樹
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学位記番号	第 18044 号
学位授与年月日	平成 15 年 6 月 17 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	Survival of Cerebellar Neurons by Presynaptic Inputs (シナプス前細胞からの入力による小脳細胞の生存)
論文審査委員	(主査) 教 授 小倉 明彦  (副査) 教 授 河村 悟 教 授 荻原 哲

#### 論 文 内 容 の 要 旨

脳の発生過程において神経細胞は過剰に生産され、適切なシナプス結合を作り、目的に適った入出力をなし得たものだけが生存する「選択」の過程を経る。この過程は「活動依存的生存」とも呼ばれ、今日の神経生物学における重要な探求課題の一つである。この発生初期の選択の機構に関して議論されている 2 つの仮説、すなわちシナプス前細胞からの入力が重要だとするものとシナプス後細胞からの影響が重要とするものについて、いまだ決着していない。

今回私は、シナプス前細胞からの入力が後細胞の生存に果たす役割を検討する目的で、小脳顆粒細胞 (CGN) を用いて解析を進めた。この細胞は培地中の KCl 濃度を上げるなどして、細胞を脱分極させて初めて生存することから、神経細胞の活動依存的生存の解析モデル系として、最も頻繁に利用されている細胞である。ここで添加した KCl は、シナプス活動を模擬するものと想定されているが、本当にシナプス活動を模擬しているかは疑わしい。CGN がシナプス入力によって生存を保証されるかどうかは、別の実験によって検証されなければならないが、その解析はこれまでなされてこなかった。

そこで CGN へのシナプス入力が CGN の生存に必要な十分であるかどうかを調べるため、まず生体内の CGN に主要な興奮性入力を与えている橋の組織片を CGN と共培養する系を確立した。その結果、この共培養系で、CGN の生存率は KCl を添加せずとも有意に上昇することが確かめられた。この生存上昇は橋由来の突起との接触、神経活動、グルタミン酸受容体の機能を必要としたことから、シナプス伝達を介していることわかった。一方、橋細胞と同様のグルタミン酸作動性の神経細胞であっても、海馬や大脳皮質の組織との共存培養では CGN の生存上昇は見られなかった。また、CGN の細胞内カルシウムの測定や蛍光色素 FM1-43 の放出を指標としたシナプス活動活性の測定により、CGN の生存が保証されるのは、機能的なシナプス活動が成立している場合に限られることも解った。これらの結果は CGN の系において、シナプス前細胞からの入力が後細胞の生存を規定していることを示している。

一方、その CGN は小脳内で、プルキンエ細胞 (PC) に対してシナプス結合を作る。もし神経細胞の生死を規定するのがシナプス前細胞であるならば、橋からの入力によって生存を支持された CGN が、PC の生存も支持すると期待される。そこで、CGN と PC とを含む小脳の切片を、橋と共存させる培養を行ってこの予想を検討した。従来 PC の生存には特定の栄養因子 (PDF ; Purkinje Differentiation Factors) の培地への添加が不可欠とされていたが、この培養を行うと、PDF 非存在下でも PC の生存が支持されたばかりか、PC の樹状突起の形態や、小脳全体の層構造ま

でもよく保存された。これらの結果も、シナプス前細胞である CGN の入力にシナプス後細胞である PC の生存を支持することを示している。前半の結果とあわせて考えると、シナプス前細胞入力による後細胞の生存維持という図式が一般に成立することが強く示唆される。また、この分野の研究に、KCl の添加あるいは PDF の投与などの人工的な系を用いずとも、より生体条件に近い解析系が比較的容易に得られ、またそれが有効であることも示された。

#### 論文審査の結果の要旨

森田大樹君は、神経細胞の選択現象（発生初期に過剰に生産され、その一部が残る形で神経系が出来上がること）の機構研究のモデルとして頻用される培養ラット小脳顆粒細胞（CGN）の系で、従来の KCl 添加に代わり、CGN への入力源細胞である橋核細胞を含む組織片の並置によって長期生存が図れることを新たに発見した。この生存は、並置する組織に特異性があり、橋と CGN との間のシナプス活動に依存していた。また、CGN の生存が向上すると平行して CGN の下流にあたるプルキンエ細胞の生存が向上することも見出した。これらの成果は、シナプス前細胞からの影響下にシナプス後細胞の生存が保証されることを示唆し、従来の通説に修正を迫るものである。本論文は、神経系の発生研究に新たな視点を提供し、理学博士の学位論文として価値のあるものと認める。