The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Brain-derived neurotrophic factor acutely depresses excitatory synaptic transmission to GABAergic neurons in visual cortical slices
Author(s)	北村, 明彦
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45446
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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【18】

氏　　名	北　村　明　彦（きた むら あき ひこ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　１８９９３　号
学位授与年月日	平成 16 年 8 月 26 日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 医学系研究科生体統合医学専攻
学　位　論　文　名	Brain-derived neurotrophic factor acutely depresses excitatory synaptic transmission to GABAergic neurons in visual cortical slices **（マウス視覚野の GABA ニューロンへの興奮性シナプス伝達に対する脳由来神経栄養因子の急性抑圧作用）**
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、従来知られていたニューロンの分化や突起伸展に関与するという慢性作用の他に海馬や大脳新皮質ではシナプス伝達を急速に増強する作用を示すことが知られている。このシナプス伝達への急性作用に関しては、スライス標本を用いた研究では、主に錐体細胞への興奮性シナプス伝達に対する効果が観察され、GABA ニューロンに対する興奮性シナプス伝達への作用はほとんど調べられていなかった。このように研究がなされなかった理由の一つは、GABA ニューロンが比較的少数で、また小型であるため微小電極で記録しにくいことにあった。そこで、本研究では、スライス標本でも GABA ニューロンを同定することが容易な GABA 合成酵素、グルタミン酸脱炭酸酵素 67（GAD67）、と緑色蛍光蛋白質（GFP）のノックインマウスから作成した視覚野スライス標本を用いて、BDNF 急性投与が GABA ニューロンへの興奮性シナプス伝達にどのような作用を及ぼすかを調べた。

［方法ならびに成績］

BDNF 急性投与は GABA ニューロンへの興奮性シナプス伝達を抑圧する。

生後９－21 日齢の GAD67-GFP ノックインマウスから視覚野スライス標本を作成し、蛍光顕微鏡下で GFP 蛍光を発している II/III 層の GABA ニューロンを同定した。これらのニューロンからホールセル・パッチクランプ法により、IV 層刺激に対する興奮性シナプス後電流（EPSCs）を記録した。テスト刺激に対するコントロール反応を記録後、200 ng/ml の BDNF を還流液より投与した。その結果、急速に EPSC の振幅が減弱し、その減弱は BDNF 投与中止後も持続した。この作用の濃度依存性を調べたところ、100 ng/ml では有意な減弱が見られたが、50 ng/ml では有意な変化が見られなかった。この抑圧作用が BDNF の高親和性受容体である TrkB を介しているかどうかを確かめるため、抗 TrkB 機能阻止抗体をスライス標本に作用させた後に、上記と同様に BDNF を投与した。その結果 BDNF の作用は阻止されることが確認された。

BDNF の抑圧作用はシナプス後部で生じる。

BDNF 急性投与による抑圧がシナプス前部への作用によるのか、後部への作用によるのかを検討するため、２連発

刺激に対する２つの反応の比、paired-pulse ratio（PPR）の解析を行った。もし、シナプス前部への作用であれば、PPR が変化することが期待されるからである。しかし、BDNF 投与前後で PPR に有意な変化がみられなかった。次に、シナプス後部で抑圧が生じている可能性を調べるためグルタミン酸を微小ピペットよりシナプス後細胞である GABA ニューロンへ直接投与し、その反応に対する BDNF の効果を調べた。その結果、グルタミン酸に対する反応が BDNF 投与によって有意に減弱した。また、シナプス後部のカルシウムがこの BDNF の作用に関与しているかどうかを調べるため、記録電極内液にカルシウムキレート剤を入れて記録したところ、BDNF の作用は見られなくなった。

Parvalbumin（PV）陽性細胞が BDNF の作用を受け易い。

GABA ニューロンは PV や cholecytockinin，calretinin 等 GABA と共存している物質によっていくつかのサブタイプに分類することができる。大脳皮質では PV 陽性細胞は GABA ニューロンの約 50%を占め、最大のグループを形成する。そこで本研究では、GABA ニューロンを PV 陽性、陰性の２つの群に分けて、BDNF の抑圧効果に選択性がみられるかどうかを調べた。その結果、PV 陽性細胞の方が抑圧を受け易いことが明らかとなった。

［総括］

BDNF の急性投与は GABA ニューロンへの興奮性シナプス伝達を濃度依存的に急速に抑圧すること、この作用はシナプス後部で TrkB を介して生じ、カルシウムが関与することが明らかになった。さらに GABA ニューロンの中でも PV 陽性細胞が抑圧され易いことも示された。BDNF は錐体細胞に対する興奮性シナプス入力を増強することが知られていたが、この錐体細胞を抑制する GABA ニューロンの活動を抑えることによって、BDNF は錐体細胞の興奮性をさらに上げる急性作用をもつことが示された。

論文審査の結果の要旨

脳由来神経栄養因子（略称 BDNF）は、大脳皮質においてシナプス伝達を急速に増強することが知られている。このシナプス伝達への急性作用に関しては、主に錐体細胞への興奮性シナプス伝達に対する効果が観察され、ガンマアミノ酪酸（略称 GABA）作動性ニューロンに対する興奮性シナプス伝達への作用は調べられていなかった。本研究では、GABA の合成酵素と蛍光蛋白質遺伝子のノックインマウスから大脳皮質視覚野スライス標本を作製し、可視化した GABA ニューロンより興奮性後シナプス反応を記録した。その結果、BDNF の急性投与は GABA ニューロンへの興奮性シナプス伝達を急速に抑圧すること、この作用はシナプス後部で BDNF の高親和性受容体である TrkB を介して生じ、カルシウムが関与することが明らかになった。さらに GABA ニューロンの中でも Parvalbumin を含む細胞が抑圧され易いことも示された。BDNF のこのような急性抑圧作用は従来知られていなかった新知見であり、BDNF の新しい機能を明らかにしたことにより本研究は学位に値するものと認められる。