

Title	Cadherin activity is required for activity-induced spine remodeling
Author(s)	岡村, 航
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/46360">https://hdl.handle.net/11094/46360</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 href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/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	岡村 航
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 20059 号
学位授与年月日	平成 18 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科情報伝達医学専攻
学位論文名	Cadherin activity is required for activity-induced spine remodeling (神経活動によるスパインの再構築に対するカドヘリンの役割)
論文審査委員	(主査) 教授 倉智 嘉久 (副査) 教授 柳田 敏雄 教授 遠山 正彌

### 論文内容の要旨

#### 〔目的〕

中枢神経系における種々の神経活動により引き起こされるシナプスの構造変化および可塑性が記憶と学習のメカニズムに関与していると考えられおり、その構造変化にはアクチン細胞骨格のリモデリングが関与していると考えられている。

シナプスとは神経細胞間の接着構造であり、その接着には接着分子群・カドヘリンファミリーが関与している。このカドヘリンはカテニンを介してアクチン細胞骨格と相互作用しており、このことからアクチン細胞骨格と相互作用するカドヘリンもまたシナプスの再構築に関与している可能性が考えられる。

以上のことから、シナプス再構築における接着分子・カドヘリンの役割を解明することを目的とする。

#### 〔方法ならびに成績〕

ラット海馬培養神経細胞に緑色蛍光タンパク質 (green fluorescent protein) を導入することで神経細胞を可視化し、培養 18-22 日目に倒立蛍光顕微鏡を用いて生きたままの状態でのシナプスの後膜構造であるスパインの形態的变化を経時的に観察した。

まず、high  $K^+$  (31 mM) 溶液にて脱分極刺激を加えたところ、脱分極刺激中において、スパインは丸く収縮しその動きが止まることが分かった、刺激を取り除くと 15-30 分後にスパインのシナプス接着面の幅が拡大することを見出した。次に、種々のグルタミン酸受容体に対する遮断薬を添加し、シナプス接着面の拡大にどの経路からの  $Ca^{2+}$  の細胞内への流入が関与しているかについて検討を行った。NMDA 型グルタミン酸受容体のアンタゴニストである APV を添加した場合には同様の拡大が認められたが、一方 AMPA 型グルタミン酸受容体のアンタゴニストである CNQX を添加した場合にはその拡大が認められなくなることが分かった。このことから、AMPA 型グルタミン酸受容体の活性化がシナプス接着面の拡大に関与していることを見出した。

さらに、カドヘリン-アクチン複合体の働きと刺激によるスパインの拡大との関連について検討を行った。まず、N (神経型) -カドヘリンの C 末端に GFP の異性体である venus をつないだコンストラクトを作成し、それを培養神経細胞に導入し、N-カドヘリン自身の動態について観察を行った。この実験から、脱分極刺激によるシナプス接着

面が拡大する際に、N-カドヘリンの分布もその接着面に沿って拡大することが分かった。

一方、ドミナントネガティブ型のカドヘリンを神経細胞に過剰発現させることで、シナプス接着面の脱分極刺激による拡大が認められなくなることが分かった。

また、アクチン細胞骨格の重合阻害剤である cytochalasin D を添加した場合においても、脱分極刺激によるシナプス接着面の拡大が認められなくなった。

#### 〔総括〕

興奮性シナプスの後膜構造であるスパインのシナプス接着面は脱分極刺激により拡大し、その構造変化は AMPA 型グルタミン酸受容体の活性化によるものである。また、その構造変化にはシナプスに多く局在する接着分子であるカドヘリンが重要な役割を果たしており、さらにカドヘリンとアクチン細胞骨格との相互作用も必要である。

以上のことからカドヘリン-アクチン細胞骨格複合体の働きは AMPA 型グルタミン酸受容体を介したシナプスの再構築に必要である。

### 論文審査の結果の要旨

中枢神経系における種々の神経活動により引き起こされるシナプスの機能的可塑性および形態的可塑性が記憶と学習のメカニズムに関与していると考えられている。本研究では、主に形態的可塑性に着目し研究を進めた。

種々の神経活動によるシナプスの構造変化にはアクチン細胞骨格のリモデリングが関与していると考えられている。そのことから、アクチン細胞骨格と相互作用する接着分子であるカドヘリンもまたシナプスの再構築に関与している可能性が考えられた。以上のことから、シナプス再構築におけるカドヘリン-アクチン細胞骨格の役割を解明することを目的とした。

まず生きた神経細胞に緑色蛍光タンパク質 (green fluorescent protein) を導入することで、細胞を生きたまま観察できるようにし、それによって興奮性シナプスの後膜構造であるスパインの形態的变化を経時的にとらえることに成功した。

また、神経細胞に刺激が加わることにより、AMPA 型グルタミン酸受容体が活性化され、シナプス接着面が拡大することを見出した。その拡大には、シナプスに多く局在する接着分子であるカドヘリンおよび、それと相互作用するアクチン細胞骨格からなるカドヘリン-アクチン細胞骨格複合体が関与していることを明らかにした。

上記の研究結果は、それぞれが独創的かつ、新たな発見であると同時に、関連分野の発展に大きく寄与するものであると考えられる。

以上の理由により、本研究論文は学位の授与に値すると思われる。