

Title	Does long-term plasticity depend on splitting of pre-existing synapses, or formation of new synapses?
Author(s)	浦久保, 知佳
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/47681
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"〉 大阪大学の博士論文について 〈/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	浦久保 知佳
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 20674 号
学位授与年月日	平成 18 年 9 月 27 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	Does long-term plasticity depend on splitting of pre-existing synapses, or formation of new synapses ? (長期可塑性成立は既存シナプスの分裂によるかシナプスの新規形成によるか?)
論文審査委員	(主査) 教授 小倉 明彦 (副査) 教授 常木和日子 教授 徳永 史生 助教授 富永(吉野)恵子

論文内容の要旨

数時間しか持続しない短期のシナプス可塑性である LTP (Long Term Potentiation) は、数日以上維持されるシナプス増加を伴う長期可塑性へどうやって移行するのか。現在、「LTP によって既存のシナプスが有孔化した後に分裂して複数のシナプスになる」という説と「LTP によって強化された有孔化シナプスとは無関係なところにシナプスが新しく作られる」という説があるが、一致した見解は得られていない(有孔化シナプスとは穴が開いたシナプス後肥厚 (PSD) を持った特殊なシナプスである)。当研究室の富永らは、このシナプス増加を伴う長期可塑性をラット新生仔から調整した海馬切片培養で再現性よく観察できる系を確立することに成功した。安定下にある海馬切片培養に繰り返し LTP を誘発すると、CA3-CA1 シナプスに 1 週間かけてゆっくり立ち上がり、その後安定期に入ると数週間持続する伝達効率の増強、すなわち繰り返し LTP 誘発依存的な長期シナプス増強 (RISE : Repetitive-LTP Induced Synaptic Enhancement) が起こる。

私はまず、グルタミン酸投与によって誘発された RISE (Glu-RISE) を定量的電子顕微鏡解析手法を用いて解析した。最初に、この増強が実際にシナプス構造の増加を伴って起こることを示した。このときにシナプスが分裂して増加したのであれば、まず有孔化シナプスが増加し、それが分裂して消滅すると続いて Multiple Spine Bouton (MSB) と呼ばれる構造が増加するはずである。しかし実際には有孔化シナプスは総シナプスの増加と平行して持続的に増加し、MSB はほとんど出現しなかった。この結果はシナプス分裂説ではなくシナプス新規形成説を支持する。これがシナプスの新規形成によるものであることを確認するために、各時点での PSD の平均長の変化を計測した。シナプスの大きさはシナプスの伝達効率や成熟度に比例することが分かっている。解析の結果、PSD 長はシナプスが増加するときに小さくなり、増加が安定期に入ると対照群のレベルまで回復することが分かった。この結果は、最初に未成熟な小シナプスが形成された後、それらが成熟して大きくなるという過程を示唆する。最後に、Ca²⁺ 透過型 AMPA 受容体の阻害剤 JSTX の投与実験を行った (JSTX は RISE を阻害することが富永らによって確認されている)。JSTX 処理によって Glu-RISE に伴うシナプスの増加は阻害されたが、有孔化シナプスの増加は阻害されなかった。つまり、シナプスの新規形成とシナプスの有孔化は独立した現象であることが明らかになった。以上の結果から、Glu-RISE に伴って起こるシナプスの増加は、LTP に伴って起こるシナプスの有孔化とは独立した機構で起こるシナプスの新規

形成によるものであることが分かった。

次に、アデニリルシクラーゼ活性化剤であるフォルスコリン (FK : Forskolin) で誘発した LTP によって起こる RISE (FK-RISE) を同様に定量的電顕解析した。この FK-RISE は CA1 錐体細胞樹状突起の近位 ($\leq 100 \mu\text{m}$) と遠位 ($\geq 150 \mu\text{m}$) のシナプスで機能的に異なることが富永と篠田によって確認されているので解析も近位と遠位に分けて行った。結果、近位は遠位に比べて RISE の成立が少し遅れることが明らかになった。しかし、部位に関係なく FK-RISE に伴って総シナプス密度と有孔化シナプス密度の増加、そして PSD 長の一時的な減少が起こることが確認された。これらのことは部位の差はあるが、FK-RISE でも Glu-RISE と同様にシナプスの新規形成が起こっていることを示唆する。

論文審査の結果の要旨

短期記憶の細胞基盤と想定される短期シナプス可塑性は、既存シナプスでの伝達効率変化によるもので、すでに機構の概略が解明されている。一方、長期記憶に対応する長期シナプス可塑性は、シナプスの新生によると想定されているが、その途中経過や機構は未解明である。経過についていえば、既存のシナプスが有孔化シナプス (PF) および枝分かれ棘 (MSB) という中間的な形態をとって分裂・増加するとする仮説と、有孔化とは独立に、新規にシナプス前構造と後構造とが発芽してシナプスの新規形成が起こるとする仮説とが拮抗している。

浦久保君は、最近所属研究室で樹立された長期可塑性の解析モデル現象 (脳切片培養に対する繰り返し短期可塑性誘発後のシナプス強化 ; RISE と略称する) について、詳細かつ定量的な電子顕微鏡解析を加えた。その結果、電氣的指標でみた RISE と平行してシナプス密度の増加が起こる (すなわち、RISE は確かに長期可塑性現象である) ことを確認したのに加え、PF の増加は見られるもののそれは持続的であること (分裂仮説によれば、増加は一過的と期待される)、MSB の出現率は不変であること、シナプスの平均サイズはいったん小さくなりその後再び大きくなること (シナプスのサイズが成熟度を示すとすれば、新規形成仮説に合致する)、これらの形態変化は RISE をグルタミン酸暴露によって引き起こしても、環状 AMP 依存性キナーゼの活性化によって引き起こしても同様にみられること、などを示した。

これらの結果は、長期可塑性が、既存のシナプスの分裂によるのではなくシナプスの新規形成によって成立する、という仮説を支持するものであり、可塑性研究に大きな寄与をなすものといえる。したがって、浦久保君の論文は、博士の学位を授与するのにふさわしいものと認められる。