The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Studies on the functional and morphological changes of the long-lasting synaptic suppression after repetitive LTD inductions
Author(s)	長谷川, 翔
Citation	大阪大学, 2016, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/56115
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（　長谷川　翔　）	
論文題名	Studies on the functional and morphological changes of the long-lasting synaptic suppression after repetitive LTD inductions. （繰り返しLTD誘発後の長期持続的シナプス弱化現象の機能的および形態的変化の解析）

論文内容の要旨

記憶は動物の生存にとって重要で、脳の主要な機能な一つである。行動上の記憶は、事象の経験後即座に成立する「獲得」の相と、それを長期に維持する「固定」の相との、少なくとも2つの相に分けられる。それに対応する細胞レベルの現象として、既存の神経回路で即時にシナプスの伝達効率が変化して情報流路が変わる「短期可塑性」の相と、その後にシナプス自体の新生・廃止を含む構造変化で情報流路が維持される「長期可塑性」の相が想定されている。

これまで、記憶の細胞レベルの研究では、成体げっ歯類脳から作成した海馬切片で、強いシナプス活動後にシナプス伝達効率が増大するLTP (Long-Term Potentiation) と、中程度の活動後に伝達効率が減少するLTD (Long-Term Depression) が詳しく解析され、その分子基盤までほぼ解明されている。これらの現象は、既存のシナプスで即時に起こる短期可塑性現象であり、行動上の「獲得」相に対応すると考えられるが、「固定」相をも解析できるかについては意見が分かれる。LTP/LTDには、確かにシナプスの肥大・縮小という構造変化が伴うが、これが長期可塑性に直結するかは未詳である。いいかえると、長期可塑性の機構は適切なモデル系がなく、解析が進んでいない。

冨永ら（2002）は、長期間の観測が可能な安定培養下の海馬切片を用い、次のような現象を見出した。1回誘発したLTPは24時間以内に消失してしまうが、LTPを適切な時間間隔をおいて3回以上繰り返し誘発すると、シナプスの新生を伴う新たな伝達強化現象が起こり、数週間以上持続した。これをRISE (Repetitive-LTP-Induced Synaptic Enhancement) とよぶ。また、篠田ら（2005）は、LTDの繰り返し後にシナプスの廃止を伴う長期的シナプス弱化現象が起こることを見出してLOSS (LTD-repetition-Operated Synaptic Suppression) と名付けた。この2つの対称的な構造可塑性現象は、行動上の記憶「固定」相に対応する細胞レベルの可塑性機構の解析モデル系になる可能性がある。

大江ら (2013) は、海馬CA1領域の錐体細胞の一部が蛍光タンパク質を発現するマウスから培養切片を作成し、RISE生起時の樹状突起棘（シナプスの後構造）の動態を経時的に追跡した。その結果、棘は常時発出と退縮の「ゆらぎ平衡」状態にあるが、刺激後にまず発出・退縮とも上昇する「ゆらぎ増大」期、ついで退縮率が先に刺激前レベルに戻る「ゆらぎバイアス」期、そして発出率も戻る「ゆらぎ再平衡」期を経て確率論的に (stochastically) 増加することが明らかになった。またこれらの動態は既存棘密度の低い樹状突起部分に限って起きていた。

RISEとLOSSは、さまざまな点で鏡像的な現象である。そこで私は、本論文の第1章で、LOSS生起時の棘動態もRISE生起時と同様な確率論的経過をとるかについて追跡した。その結果、意外なことに、3回目のLTD誘発刺激の後すぐに棘退縮率が上がり、棘数減少が始まった。また、この変化は既存棘密度と無関係にすべての樹状突起部分で起きていた。すなわち、これらの点において、RISEとLOSSは鏡像的ではなかった。

しかし、この知見は新たな問題を生む。構造変化は急速に起こるのに、機能変化（シナプス後電位の減弱）は緩徐に進行する。この時間的乖離をどのように説明するかという問題である。私は本論文の第2章で、想定可能な3つの仮説、「1. 未熟で非機能的な棘が先に退縮する」、「2. サイレントシナプスが先に退縮する」、「3. シナプス前構造を伴わないいわゆるorphan spineが先に退縮する」を立て、当否を検討した。その結果、未熟な棘とされる切株型、細棒型シナプスは減っておらず、仮説1は支持されなかった。また、LTP誘発規模は不変で、仮説2も支持されなかった。しかし、シナプス前構造染色の結果、初期にシナプス前構造は減少しておらず、仮説3を支持する結果がえられた。

さらに私は、LOSS現象に伴う一連の形態変化をもたらす細胞内信号について、初期的な薬理学的検討を加えた。阻害剤によるLOSS生起抑制実験の結果から、calcium/diacylglycerol-dependent protein kinase (PKC) および calcium/calmodulin-dependent protein kinase (CaMKII) の関与が示唆された。これらの結果も第2章に記載した。

以上の解析結果は、行動上の記憶の「固定」過程の細胞基盤を解析する上で、とくにシナプス廃止による神経回路改編の機構を解析する上で、新たな知見を加えるものである。

様式７

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（長谷川　翔）		
	（職）	氏　名
論文審査担当者	主査　教授	小倉　明彦
	副査　教授	八木　健
	副査　教授	藤田　一郎
	副査　教授	北澤　茂

論文審査の結果の要旨

動物の行動上の記憶は「獲得（acquisition）」の相と「固定（conslidation）」の相とに分けられる。当研究室では、培養下の海馬切片に、記憶の獲得過程に比定できる細胞レベルの現象であるLTPやLTDを繰り返し誘発すると、記憶の固定過程に比定できるシナプス新生（RISE）や廃止（LOSS）が生起することを発見し、これをモデル系として記憶固定過程の細胞基盤を解析している。その中で先年、RISEがゆらぎ原理に基づいて進行することを示した。

長谷川翔君は、種々の点でRISEと鏡像的に見えるLOSSが、同様なゆらぎ原理に従うかどうか、蛍光標識した同一神経細胞の経時的観察によって解析した。その結果、意外なことに、鏡像的ではなく、シナプス後構造である樹状突起棘は即座に退縮を始めることを確認した。しかし、この結果から新たな疑問が生じた。形態的変化（棘の減少）は急速であるのに対し、機能的変化（シナプス後電位の低下）が緩徐なのはなぜか、である。この疑問について、同君は複数の仮説を立てて検証し、シナプス前構造を伴わない、いわゆるorphan spinesが優先的に退縮するためであるとの結論をえた。

これらの成果は、記憶の固定過程の細胞基盤と想定されるシナプスの新生・廃止の機構の理解を進めるもので、本論文は同君に博士学位を授与するに値すると判断される。