OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Involvement of p75NTR signaling pathway in persistent synaptic suppression coupled with synapse elimination following repeated LTD induction
Author(s)	江頭, 良明
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/88
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【87】

氏名	江頭良明
博士の専攻分野の名称	博士（理学）
学位記番号	第　23944　号
学位授与年月日	平成22年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 生命機能研究科生命機能専攻
学位論文名	Involvement of p75NTR signaling pathway in persistent synaptic suppression coupled with synapse elimination following repeated LTD induction （LTDの繰り返しによって生じる長期持続性シナプス抑圧・廃止現象へのp75NTRシグナル経路の関与）
論文審査委員	（主査） 教授　小倉　明彦 （副査） 教授　河村　悟　　教授　藤田　一郎 招へい教授　小島　正己（産業技術総合研究所）

論文内容の要旨

Synaptic plasticity, especially structural plasticity such as synapse formation and synapse elimination, is thought to be a basis for long-lasting memory. The laboratory I belong to (simply referred to 'we', hereafter) previously reported in stable organotypic cultures of the rat hippocampal slice that the repeated induction of LTD (long-term depression) by application of an mGluR (metabotropic glutamate receptor) agonist led to slowly developing, long-lasting synaptic suppression coupled with synapse elimination. We referred to this phenomenon as LOSS (LTD-repetition-operated synaptic suppression) to discriminate it from conventional single LTD and proposed it as an in vitro model to analyze structural plasticity. Recently the p75NTR signaling possibly activated by proneurotrophins (precursor forms of neurotrophins including NGF and BDNF) has been gaining attention as a novel pathway that regulates neuronal apoptosis as well as synaptic plasticity such as LTD and synapse elimination. In this study, I examined the possible involvement of this signaling in the establishment of LOSS. Application of anisomycin, a protein synthesis inhibitor, indicated the requirement of novel protein synthesis within 6 hours after the induction of mGluR-dependent LTD. This result supports that LOSS is an active process instead of a passive one such as withering due to shortage of trophic factors.

Quantification of protein expression level after repeated LTD induction suggested that proBDNF (a potential ligand to p75NTR) is newly synthesized within 6 hours after the induction of LTD. Therefore I treated the cultured slices with antibody that binds to and neutralizes p75NTR following the repeated LTD induction and found that LOSS was blocked by this antibody treatment, supporting the commitment of p75NTR signaling in LOSS production. In addition, the exogenous application of a cleavage-resistant form of proBDNF led to synaptic suppression and spine elimination similar to LOSS. These results suggest the involvement of the p75NTR signaling pathway for the long-lasting decremental form of synaptic plasticity.

論文審査の結果の要旨

本論文は、長期記憶の細胞基盤解明のためのモデル現象と考えられる「繰り返しLTD誘発後のシナプス廃止現象 (LOSS; *L*TD-repetition-*o*perated *s*ynaptic *s*uppression)」について、新たな機構仮説を提唱するものである。

シナプス可塑性には、既存のシナプスにおいて瞬時に伝達効率が増減する「短期可塑性」と、その後新規蛋白質合成を伴う形態変化を通じて持続的に伝達強度が増減する「長期可塑性」の相があると想定されているが、この短期→長期変換の機構は明らかではない。頭記現象は、長期安定培養下にある海馬切片に対して、短期可塑性現象の一つであるLTD (*l*ong-*t*erm *d*epression) を繰り返して誘発すると、その後シナプス廃止を伴う長期的な持続的な伝達減弱が起こることをいう。

江頭君は、まず、LOSS成立に蛋白質の新規合成が必要なことを薬理学的な方法で確認した。ついで、その合成に必要な時間枠を、3時間以降6時間以前と定めた。そして、この時間枠内に、脳由来神経栄養因子(BDNF; *b*rain-*d*erived *n*eurotrophic *f*actor)の前駆体蛋白質であるproBDNFの合成・蓄積が起こることを蛋白化学的な方法で見出した。ProBDNFとは、最近、BDNFとは別個の細胞間信号分子として注目されている分泌蛋白質である。そこで、proBDNFの受容体とされるp75^{NTR} (*75*kD putative *n*euro*t*rophin *r*eceptor) を、その機能阻害性抗体によって遮蔽したところ、LOSSの成立が阻害された。また、切断を受けない変異型proBDNFを外因的に投与すると、LOSSと同等なシナプス現弱が起こることを確認した。これらの検証を、電気生理学と蛍光色素の微小注射による細胞形態観察とを対比しながら行い、整合性のある結果として示した。

これらの成果は、シナプス可塑性研究に新たな視点を提供するものといえ、理学博士の学位論文として十分に価値あるものと認められる。