

審査の結果の要旨

堀池 由浩

本研究は 大脳皮質における錐体細胞樹状突起スパインの形態可塑性と、タンパク質合成の関係性を調べるため、海馬スライス培養標本の CA1 錐体細胞を用いて、ケイジドグルタミン酸の2光子励起による単一スパインへの刺激と、シナプス後細胞の発火を組み合わせる刺激法（スパイクタイミング刺激）、又はシナプス後細胞の発火を伴わず単一スパインへの刺激のみの刺激法（コンベンショナル刺激）による、スパイン形態可塑性への影響を比較検討したものであり、下記の結果を得ている。

1. スパイクタイミング刺激の場合、刺激したスパイン特異的にその頭部体積が漸増的に増加し、タンパク質合成を必要とすることが示された。一方、コンベンショナル刺激のスパイン頭部増大は漸減的であり、タンパク質合成を必要としなかった。

2. スパイクタイミング刺激では、樹状突起からスパイン頭頂部までの長さが短くなり、スパイン頸部の蛍光値が大きくなることが示された。また、このスパイン頸部の形態可塑性は、タンパク質合成依存的であった。一方、コンベンショナル刺激では、その長さが大きくなる場合が多くなったが、スパイン頸部の蛍光値は大きくならなかった。このスパイン頸部の形態可塑性は、タンパク質合成を必要としなかった。

3. チロシンキナーゼ阻害剤、抗 TrkB 抗体、及び TrkB-Fc 融合タンパク質を各々投与したところ、スパイン頭部増大の漸増相が選択的に抑制され、その即時相やコンベンショナル刺激によるスパイン頭部増大には影響しなかった。これより、スパイクタイミング刺激によるスパイン頭部増大は、BDNF の内因性の分泌に依存して起こり、さらに BDNF の分泌にはシナプス後細胞のスパイクが必要であることが示唆された。

4. BDNF 存在下でコンベンショナル刺激をした場合、スパイン頭部増大の持続相が大きくなることが示された。また、ホールセルパッチクランプしない GFP 発現細胞を用いた場合も同様な結果であった。一方、スパイクタイミング刺激によるスパイン頭部増大は、BDNF によってより大きくはならなかった。また、BDNF 存在下でスパイクタイミング刺激により誘発したスパイン頭部増大は、タンパク質合成阻害剤で抑制されることが示された。これより、BDNF が過剰にあってもスパイクタイミング刺激で誘発したスパイン頭部増大はタンパク質合成を必須としており、タンパク質合成依存的な頭部増大の成立に必要なタンパク質は BDNF だけではないことが示された。

以上、本論文はタンパク質合成に依存的なシナプス形態可塑性を初めて見出した。即ち、シナプス入力による刺激のみでスパイン頭部増大は起きたが、これはタンパク質合成に依存しなかった。しかし、シナプス入力と同期したスパイク誘発を行うことにより、BDNFを介するタンパク質合成依存的な漸増的スパイン頭部増大が、刺激したシナプス特異的に起きることがわかった。動物行動実験から、長期記憶の獲得にはタンパク質合成が必要であることが知られているが、このタンパク質合成依存的な頭部増大は、長期記憶の形態基盤である可能性が示唆された。以上より、本研究は学習・記憶の機構解明に重要な貢献をなすと考えられることから、学位の授与に値するものと考えられる。