

## P101 大脳視覚野の生後発達における皮質ニューロン活動の役割

畠義郎<sup>1,2</sup>、大島稔<sup>1</sup>、一坂吏志<sup>1,2</sup>、亀山克朗<sup>1,2</sup>、津本忠治<sup>1,2</sup> (1 阪大院医、2 CREST・JST)

哺乳動物の大脳皮質一次視覚野の光反応性や眼優位コラムといった性質や構造は、生後発達の過程で獲得されてくるが、その時、神経活動に依存したメカニズムが重要であるとされている。本研究では、皮質ニューロンの活動が、視覚野の発達において果たす役割を探るため、まだコラム構造や光反応性が未熟な、生後14日程度の仔ネコの視覚野ニューロン活動を薬理的に抑制した。その状態で4週間飼育した動物では、光反応はきわめて貧弱であり、方位選択性もほとんどのニューロンにおいて認められなかった。また、Transneuronal labeling 法により眼優位コラムを調べたが、一方の眼に対応する入力線維は視覚野上をほぼ一様に投射し、コラム様構造は見られなかった。これらの結果は、視覚野の生後発達に皮質ニューロン活動が重要な役割を果たすことを示唆している。

## P102 皮質ニューロンにおける脳由来神経栄養因子の動態—シナプス後細胞への活動依存的移動

小原圭吾<sup>2</sup>、北村明彦<sup>1,2</sup>、森島美絵子<sup>1,2</sup>、津本忠治<sup>1,2</sup> (1 阪大院医、2 CREST・JST)

脳由来神経栄養因子 (BDNF) は、大脳皮質の回路形成や可塑性に関与していることが知られており、シナプス後細胞からシナプス前細胞へという逆行性経路で作用すると考えられてきた。しかしながら、BDNFの細胞間転移を示した直接的な報告はなく、またそれに対する神経活動の関与も未解明であった。今回、我々は GFP を融合させた BDNF (BDNF-GFP) と赤色蛍光蛋白質 (RFP) の cDNA を核内マイクロインジェクション法を用いて単一皮質神経細胞に同時に遺伝子導入し、BDNFの細胞内局在と動態を可視化した。軸索上では、BDNF-GFP は順行性に輸送され、活動依存的にシナプス後細胞に移動することが示された。

## P103 脳由来神経栄養因子慢性投与による孤立培養皮質ニューロンの機能的シナプス部位の増大

高田直樹<sup>1,2</sup>、谷口暢章<sup>1,2</sup>、安田浩樹<sup>1,2</sup>、木村文隆<sup>1,2</sup>、津本忠治<sup>1,2</sup> (1 阪大院医、2 CREST・JST)

脳由来神経栄養因子 (BDNF) の慢性投与がラット大脳皮質視覚野から培養した孤立ニューロンの興奮性後シナプス電流 (excitatory postsynaptic current, EPSC) にどのような影響を与えるのかを調べた。その結果、BDNFの慢性投与によって AMPA 型および NMDA 型グルタミン酸受容体由来の evoked EPSC の増大が認められた。また、miniature EPSC の頻度の増大も見られたが、その振幅は減少した。さらに、機能的なシナプス部位を選択的に染色する蛍光色素(FM1-43)を用いて調べたところ、BDNF 投与群でより多くのシナプス形成が認められた。これらの結果から、慢性投与した BDNF は主にシナプスの数を増加させることによってシナプス反応を増大し、その結果、興奮性のシナプス結合を強化することが示唆された。

## P104 皮質視覚野における神経栄養因子タンパク質量の入力依存的変化

一坂吏志<sup>1,3</sup>、仙波りつ子<sup>2,3</sup>、畠義郎<sup>1,3</sup>、大島稔<sup>3</sup>、津本忠治<sup>1,3,2</sup> (1 阪大院医、2 愛知県心身障害者コロニー、3 CREST・JST)

脳由来神経栄養因子 (Brain-derived neurotrophic factor, BDNF) とニューロトロフィン3 (neurotrophin-3, NT-3) は大脳皮質視覚野の可塑性に何らかの役割を果たすと考えられている。したがって、視覚野内のこれらの神経栄養因子量は視覚入力の変化にもなって変化すると予想される。この可能性を検証するため、フェレット視覚野における BDNF、NT-3 タンパク質量の視覚入力遮断による変化を 2 部位酵素免疫測定法を用いて測定した。その結果、両眼球内へのテトロドトキシン注入による 24 時間の視覚入力遮断によって、視覚野以外の脳領域では変化が無かったが、視覚野の BDNF タンパク質量は有意に減少した。一方、NT-3 タンパク質量は視覚野においても有意な変化はみられなかった。これらの結果は、視覚野において BDNF タンパク質量が視覚入力によって制御されていることを示唆している。

**P105 脳由来神経栄養因子ノックアウトマウス視覚野におけるシナプス長期抑圧**

北村明彦<sup>1,3</sup>、木下秀一郎<sup>1,3</sup>、伊丹千晶<sup>2</sup>、中村俊<sup>2</sup>、津本忠治<sup>1,3</sup> (1 阪大院医、2 国立精神・神経セ、3 CREST・JST)

脳由来神経栄養因子 (BDNF) はシナプスの発達と可塑性に重要であることが示されている。我々は今まで、ラットの大脳皮質視覚野の脳切片標本において、BDNF がシナプス長期抑圧 (LTD) を阻止することを報告した。この BDNF の役割をさらに検討するため、BDNF ノックアウトマウスを用いて実験を行った。生後 6 ~10 日のマウス大脳皮質視覚野の脳切片標本において、II/III 層の錐体細胞をホールセル・パッチクランプ法により膜電位固定し、IV 層刺激に対する Excitatory postsynaptic currents (EPSCs) を記録した。-70mV の電位固定下で低頻度連続刺激 (1Hz, 10 分) を IV 層に与えたところ、野生型では有意な LTD は見られなかったが、ホモ欠損型では LTD が生じた。次に、この結果が真に BDNF 欠損によるものかどうかを確かめるため、BDNF を灌流液より投与し、レスキューできるかどうかを検討しており、その結果も合わせて報告する予定である。

**P106 脳由来神経栄養因子遺伝子導入による培養皮質神経細胞の変化**

森島美絵子<sup>1,2</sup>、惣谷和弘<sup>1,2</sup>、高田直樹<sup>1,2</sup>、安田浩樹<sup>1,2</sup>、木村文隆<sup>1,2</sup>、津本忠治<sup>1,2</sup> (1 阪大院医、2 CREST・JST)

脳由来神経栄養因子 (BDNF) は最近になって神経回路の活動依存的変化に重要な働きをしていることが明らかになってきた。本研究では、培養皮質神経細胞に BDNF-GFP 遺伝子を導入し、コントロールとして同時に GFP 遺伝子のみを導入した別の細胞との比較によって BDNF が神経細胞の形態に及ぼす作用について定量的に解析した。その結果、BDNF-GFP を発現した細胞は GFP のみを発現した細胞と比較して細胞体の面積、神経突起の合計の長さには変化がないが、神経突起の数、神経突起の分岐点の数が増加した。さらに神経突起の枝分かれの特性についても調べたところ細胞体近傍で神経突起が増加し、枝分かれの複雑さも増したことがわかった。以上の結果から、BDNF は神経突起、特に細胞体近傍の突起の形成や発達に影響を及ぼすと考えられた。

**P107 BDNF induces a long-lasting potentiation of synaptic transmission in visual cortex *in vivo* in young but not adult rats**

Bin Jiang<sup>2</sup>, Minoru Ohshima<sup>2</sup>, Satoshi Ichisaka<sup>1,2</sup>, Yoshio Hata<sup>1,2</sup> and Tadaharu Tsumoto<sup>1,2</sup>

(1 Osaka University Graduate School of Medicine, 2 CREST・JST)

Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) has been reported to rapidly enhance excitatory synaptic transmission in visual