

氏 名	大 平 耕 司
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	理 博 第 2240 号
学位授与の日付	平 成 12 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	理 学 研 究 科 生 物 科 学 専 攻
学位論文題目	発達期霊長類の中枢神経系における TrkB に関する研究

論文調査委員 (主 査) 教 授 林 基 治 教 授 竹 中 修 教 授 片 山 一 道

論 文 内 容 の 要 旨

脳由来神経栄養因子 (BDNF) は、神経細胞の生存とその機能維持に重要な働きをしている脳内機能分子である。申請論文は、BDNF の受容体 TrkB のマカク (カニクイザル, アカゲザル) 中枢神経系における発現を、分子生物学的手法を用いて究明したものである。サルの脳は、ヒトと類似した性質を持っている。例えば、大脳皮質は多数の領野に分けられる。またゲッ歯類では回路網形成、シナプス形成時期の分離があいまいであるが、霊長類では明瞭に分かれている。従って霊長類のこのような特徴は、BDNF や TrkB の機能解析を容易にするばかりではなく、ヒトの脳を知る上で重要な知見を提供する。

以上の理由から、マカク中枢神経系における TrkB の生理学的機能を明らかにするために TrkB の分布、発達および分子間の相互作用について解析し以下の結果を得た。

1) TrkB には細胞内にチロシンキナーゼ (TK) を持つ TK+ と、TK を持たない TK- が存在するが、成熟期のサル中枢神経系の全ての領域で TK+ および TK- は発現していた。また大脳皮質各領野において TK+ は胎生期から成熟期まではほぼ一定して発現していたが、TK- の発現は、生後から顕著に増加した。この時期は脳梁繊維数の減少と一致しており TK- が繊維の除去に関与する可能性を示した。

2) TrkB サブタイプ間のダイマー形成について胎生期、新生期および成熟期のサル大脳皮質を用いて解析を行った。その結果、TK- が発現していない胎生期では TK+ のホモダイマーのみの形成が確認された。一方、生後では TK- の発現が増加するに従って TK- ホモダイマー、TK+ TK- ヘテロダイマーが形成されることが明らかにされた。

3) 最近、コレステロール・糖脂質に富む低比重膜領域は細胞内外の情報伝達場として機能することが知られてきた。そこで TrkB が大脳皮質の低比重膜領域に存在するのかどうかを検討し、低比重膜領域に TrkB が存在し、一方 Triton 処理によって TrkB は可溶化されることが示された。従って TrkB は低比重膜領域にゆるく結合していることが明らかとなった。

4) 成熟期のサルで TrkB 発現が多かった小脳において、BDNF、TK+、TK- の分布を免疫組織化学法を用いて解析した。その結果、小脳皮質に存在する全ての神経細胞において、免疫活性が観察された。二重染色法により、TK+ が強く TK- が弱く発現している部位、TK+ が弱く TK- が強く発現している部位が存在することが示された。

以上の結果から、胎生期から成熟期のサルの中枢神経系における BDNF の生理機能は、TrkB のサブタイプ間の相互作用によって調整され、また TrkB のサブタイプの発現調節は脳内で空間的、時間的に厳密に制御されていると考えられた。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

近年中枢神経系には神経細胞の生存、発達と機能維持に重要な神経栄養因子類が存在することが報告されている。神経栄養因子の中で脳由来神経栄養因子 (BDNF) は、受容体の TrkB を介して中枢神経細胞に作用することが知られている。本論文は、マカクの中枢神経系における TrkB のサブタイプの分布、発達と分子間相互作用を明らかにしたものである。従来、この種の研究はゲッ歯類を用いて行われているが、霊長類での知見はほとんどなく、その点で極めて貴重なものである。

申請者はまず TrkB のなかでチロシンキナーゼ (TK) をもつ TK+ と TK をもたない TK- のマカクサルにおける脳内分布を調べ、ほとんど全ての脳領域に両分子が発現していること、TK- は海馬や小脳など可塑性に富む領域に多く発現していることを見い出した。また TK+、TK- の大脳皮質各領域における発達過程を調べ、TK+ は胎生時期から成熟期まで一様に発現している一方、TK- は生後から顕著に増加することを明らかにし、サルの脳梁繊維の除去に TK- が関与する可能性を指摘した。従来霊長類の脳梁繊維がどのようなメカニズムで除去されるのかについては全く不明であったが、今回の結果は重要な示唆を与えるものである。次に大脳皮質の発達にともなう TrkB のサブタイプ間のダイマー形成について解析し、胎生期では TK+ のホモダイマーのみ検出されるが、生後では TK- ホモダイマー、TK+TK- ヘテロダイマーが形成されるという新発見を見い出した。TrkB を構成するダイマーの分子種が胎生期と生後では異なるという結果から、TrkB ダイマーのサブタイプが発達時期の違いにより異なった生理作用を示す可能性を論じている。これは TrkB シグナル伝達の多様性について新しい概念を示したものとして評価された。さらに TrkB が脳内の低比重膜領域にゆるく結合していること、カルシウムが低比重膜領域のチロシンリン酸化を促進するという新事実を見い出した。以上の成果は、今後 TrkB を介するシグナル伝達のメカニズムを調べる際に低比重膜領域を用いることの有効性を示したもので有意義と判断された。また成熟期のサルの小脳において TK+ と TK- の二重染色法を行い、それぞれのタンパク質の発現に強弱のあるコンパートメントが存在するという新発見を見い出し、これらのコンパートメントが小脳の高次機能に関与する可能性を指摘した。

以上のように申請論文は霊長類の脳内における TrkB の生理機能に関して重要な学問的貢献をするものであり、博士（理学）の学位を授与するに十分価値あるものと判断された。

なお平成 12 年 1 月 24 日、論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。