

論文の要旨

申請者 榎本真悟

研究論文題目

電気けいれん処置が成体ラット海馬でのエンドサイトーシス、細胞内小胞輸送機構ならびに BDNF/TrkB シグナルに及ぼす影響についての検討

1 目的

電気けいれん療法 (Electroconvulsive therapy : 以下 ECT) は、うつ病の効果的な治療法であり、海馬の神経突起やシナプス数を増やし海馬機能を回復させるが、その分子メカニズムの詳細は不明である。そのメカニズムの一端を明らかにするために、ECT の動物モデルである電気けいれん処置 (Electroconvulsive shock : 以下 ECS) を用いて、海馬におけるエンドサイトーシス及び小胞輸送機構の変動、ならびに神経栄養因子の一つである brain derived neurotrophic factor (以下 BDNF) シグナルの変動を調べた。

2 対象並びに方法

clathrin は、エンドサイトーシスの際に細胞膜が凹んで形成される小胞を裏打ちする蛋白であり、caveolin-1、flotillin-1 は密集して細胞膜に凹みを形成させる蛋白である。RAB5、RAB7、RAB11、RAB4 はエンドサイトーシスに後続する細胞内小胞輸送に関わる機能蛋白である。また形質膜上には、コレステロール及びスフィンゴ脂質に富み、エンドサイトーシスが活発に営まれる脂質ラフト領域の存在が想定されている。実験 1 では、6 週齢の雄 Sprague Dawley rat を対照群及び 10 日間 ECS 群の 2 群に分けた。各群の海馬全域に対し clathrin heavy chain、clathrin light chain、caveolin-1、flotillin-1、RAB5、RAB7、RAB11、RAB4、 β アクチン、GAPDH の抗体を使用してウエスタンブロット法を行った。加えてショ糖密度勾配遠心法により分離した海馬の脂質ラフト分画について、caveolin-1、flotillin-1、 β アクチン、GAPDH の抗体を用いてウエスタンブロット法を行った。

成熟型 BDNF は受容体である TrkB をリン酸化して、海馬の神経突起やシナプスを増加させる。一方で前駆体である proBDNF は神経活動抑制とアポトーシス誘導に働く。実験 2 では、7 週齢の雄 Sprague Dawley rat を対照群及び 10 日間 ECS 群に分けた。各群の海馬全域、腹側海馬、背側海馬について、成熟型 BDNF、proBDNF、TrkB、リン酸化 full length TrkB、 β アクチン、GAPDH の抗体を用いてウエスタンブロット法を行った。また対照群、2 日間 ECS 群、5 日間 ECS 群の 3 群に分け、海馬全域において成熟型 BDNF、 β アクチンの抗体を使用しウエスタンブロット法を行った。更に対照群、2 日間 ECS 群の 2 群に分け、TrkB、GAPDH の抗体を用いてウエスタンブロット法を行った。

3 成 績

10日間のECSに伴い海馬全域で、エンドサイトーシス関連蛋白 (clathrin heavy chain、clathrin light chain、caveolin-1、flotillin-1) 及びエンドソーム関連蛋白 (RAB5、RAB7、RAB11、RAB4) の発現が増加した。

10日間のECSに伴い海馬の脂質ラフト分画で、エンドサイトーシス関連蛋白 (caveolin-1、flotillin-1) の発現が増加した。

10日間のECSにより、成熟型BDNFの海馬全域、腹側海馬、背側海馬における発現は増加した。proBDNFの海馬全域、腹側海馬、背側海馬における発現は不変であった。truncated TrkBの海馬全域、腹側海馬、背側海馬における発現は不変であった。full length TrkBの海馬全域、腹側海馬、背側海馬における発現は減少した。リン酸化 full length TrkBの海馬全域、腹側海馬、背側海馬における発現は増加した。

5日間のECSにより、成熟型BDNFは海馬全域で増加した。

2日間のECSで、海馬全域でのtruncated TrkBの発現は不変であった。海馬全域でのfull length TrkBの発現も不変であった。

4 結 論

実験1および2より、ECTが海馬で小胞輸送機構を広範囲に活性化すると同時に、full length TrkBの減少を伴いながらBDNF/TrkBシグナルを増強させ、それらがてんかん活動性上昇の回避と、抗うつ効果に関与している可能性が示唆された。