

学 位 論 文 要 旨

博士課程 ①・乙	第 14 号	氏名	蔦島 譲治
<p>[論文題名]</p> <p>Selective Injection System into Hippocampus CA1 via Monitored Theta Oscillation シータ波モニタリングを利用した海馬 CA1 への選択的インジェクションシステム PLoS One. 2013 Dec 16;8(12):e83129.</p> <p>[要 旨]</p> <p>学習および記憶形成の基本的メカニズムとして、その神経機能の基盤はシナプス可塑性であると考えられている。このシナプス可塑性のモデルとして、これまで神経活動に依存してシナプス伝導効率が長時間増強する性質は、海馬 CA1 領域における長期増強現象 (LTP) がよく知られており、これを用いてシナプス可塑性の分子機構解明に向けてさかんに研究がなされてきた。</p> <p>海馬 LTP は、通常げっ歯類の急性脳スライスを用いて分析されている。しかし、<i>in vitro</i> で単離された脳スライスを用いた培養神経細胞ではその興奮性の変化により、電気生理学的分析が阻害されることがある。そのため、より <i>in vivo</i> に近い状態での神経細胞内分子機構を解析することが求められ、<i>in vivo</i> 神経細胞への効率よい遺伝子導入法が必要とされている。しかし、マウスの脳における海馬 CA1 錐体細胞層の厚さは 0.1mm と薄く、正確に外来遺伝子を導入するのが困難である。</p> <p>そこで、確実に海馬 CA1 領域への外来遺伝子導入を可能とするため、CA1 錐体細胞が発するシータ波を利用した定位注入システムを開発した。それは、海馬 CA1 錐体細胞層でシータ波が最大となることを利用し、このシータ波をモニタリングしながら、その最大値箇所にピペットで溶液注入を行う方法である。このアプローチは海馬 CA1 領域への正確な液体注入を可能にし、ウイルスベクター等を用いて海馬 CA1 へ遺伝子導入する上で効率的な方法である。</p> <p>本論文においてウイルスベクターの選定では、まず細胞毒性が少なく、GluA1 などの大型遺伝子を効率よく発現するウイルスベクターとして、ヘルペスウイルスベクターを採用した。GluA1 遺伝子を欠損した GluA1 ノックアウトマウスに GFP と GluA1 両者を同時発現するヘルペスウイルスベクターを海馬 CA1 錐体細胞に感染させ、同一細胞における GFP と GluA1 の発現の差を検討した。2 つの遺伝子の発現レベルの差は個々の神経細胞でみとめられるが、ほとんどの細胞で GFP と GluA1 両方を発現していた。</p> <p>また次に、毒性の少ないレンチウイルスベクターを用いて GluA1 ノックアウトマウスに GluA1 cDNA を導入し、急性海馬スライスを用いて電気生理学的実験を行うことで、GluA1 ノックアウトマウスで失われた海馬 LTP をレスキューできる結果も得ることができた。</p>			

以上のように、本論文においてシータ波を利用したインジェクションシステムが、海馬 CA1 領域への外来遺伝子導入に非常に有用であることを示した。

備考 論文要旨は、和文にあつては 2,000 字程度、英文にあつては 1,200 語程度とする。