



Title	幼若ラット大脳皮質視覚野における白質高頻度刺激時の細胞内カルシウム動態の検討
Author(s)	高橋, 正紀
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38967">https://hdl.handle.net/11094/38967</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	高橋正紀
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第11244号
学位授与年月日	平成6年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科生理系専攻
学位論文名	幼若ラット大脳皮質視覚野における白質高頻度刺激時の細胞内カルシウム動態の検討
論文審査委員	(主査) 教授 津本忠治 (副査) 教授 三木直正 教授 柳原武彦

### 論文内容の要旨

#### [目的]

幼若期の大脳皮質視覚野のシナプスでは高頻度入力の後、伝達効率が長期にわたり増強すること (Long-term Potentiation, LTP) が知られている。この現象は発達期における神経回路網の入力による変化の基礎にあると想定されている。最近の研究により、視覚野における LTP には NMDA (N-methyl-D-aspartate) レセプターの活性化や細胞内カルシウムの増加が必要であることが示されており、また皮質の層により LTP の起こり易さに違いがあることも示唆されている。本研究では、カルシウム感受性蛍光色素による顕微測光法を幼若ラット視覚野切片標本に適用し、LTP を起こす条件で白質を刺激した際の細胞内カルシウム動態を明らかにし、その変化のメカニズムや層による違いを解明しようとした。

#### [方法]

生後15~30日齢のSDラット大脳皮質視覚野より、厚さ約400μmの脳切片標本を作成し、Krebs-Ringer液中で1時間インキュベーションした。この切片を細胞膜透過性の蛍光カルシウム指示薬、rhod-2/AMを10μM含むRinger液中で1時間インキュベーションし、その後細胞外の色素を洗い流した。

測定は落射蛍光顕微鏡上の記録槽で行った。白質に双極の刺激電極を設置し、II/III層に細胞外電極を刺入し白質刺激により誘発される集合電位を記録した。蛍光測定はキセノンランプ(75W)を光源とし、通常のrhodamine用のダイクロイックミラーカセット(励起波長540nm、蛍光波長580nm)を使用して行った。蛍光画像をSITカメラで取り込み、画像処理装置およびコンピューターを用いて計測枠(50×50μm)内での蛍光強度の時間経過の解析ならびに2次元画像の解析を行った。細胞内カルシウムの変化は、刺激前の蛍光強度に対する変化の割合、ΔF/Fとして評価した。5Hz、1分間の高頻度(テタヌス)刺激を白質に与え、その際の蛍光強度の変化およびその前後の集合電位の変化を観察した。

#### [結果]

LTPを誘発し得る白質テタヌス刺激により、蛍光の増加すなわち細胞内カルシウムの増加が、刺激部位から脳表面に対し垂直方向にカラム様に観察された。また、II/III層では水平方向にも拡がる傾向が見られた。さらに、この蛍光の増加はII/III層では他の層に比し有意に大きかった。

このII/III層でのカルシウム増加のメカニズムを薬理学的に検討した。NMDA レセプターの拮抗薬である2-

amino-5-phosphonovaleric acid (APV) を投与したところ、集合電位には変化はほとんど見られなかつたが、テタヌスによる蛍光増加は有意に抑制された。また、カルシウム透過型の non-NMDA レセプターの関与を明らかにするため、non-NMDA レセプターの拮抗薬である 6-cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione (CNQX) を細胞外  $Mg^{2+}$  非存在下で投与したところ、集合電位は顕著に抑制されたが、蛍光増加は有意には抑制されなかつた。さらに、電位依存性カルシウムチャネルの寄与について検討するため、L型のブロッカーとして nifedipine, diltiazem を、T型に比較的選択性のあるブロッカーとして  $Ni^{2+}$  (100  $\mu M$ ) を投与した。これらのブロッカーにより、集合電位には若干の抑制傾向は見られたものの、蛍光増加は有意には抑制されなかつた。

#### 〔総括〕

幼若ラット大脳皮質視覚野切片標本において、LTP を誘発し得るテタヌス刺激により細胞内カルシウムの増加が観察され、II／III層で顕著であった。このII／III層でのカルシウム増加のかなりの部分が、NMDA レセプター介していることが示された。

#### 論文審査の結果の要旨

大脳皮質におけるシナプス長期増強は、記憶・学習あるいは環境に対する脳の適応的変化の基礎過程と想定されている。この長期増強の誘発に、細胞内カルシウム増加が必要であることは海馬すでに報告されていたが、その増加の機構については不明な点が多かった。

本研究は、幼若ラットの大脳皮質視覚野切片標本に蛍光カルシウム指示薬を用いた顕微測光法を適用し、長期増強を引き起こす高頻度刺激時の細胞内カルシウム動態について検討したものである。その結果、高頻度入力によるカルシウム増加は皮質II／III層でもっとも顕著であること、またその増加にはNMDA型のグルタミン酸レセプターが主要な役割を果たしていることを明らかにした。

以上の研究結果は、大脳皮質におけるシナプス可塑性のメカニズムを解明する上で有用な知見であり、学位に値すると考えられる。