



Title	培養視覚野神経細胞間におけるシナプス伝達の長期増強
Author(s)	大津, 洋
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38970
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名	おお づ 洋
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 1 7 5 5 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 7 年 3 月 23 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	培養視覚野神経細胞間におけるシナプス伝達の長期増強
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 津 本 忠 治 (副査) 教 授 福 田 淳 教 授 三 木 直 正

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

大脳皮質視覚野の神経細胞は生後初期の入力によってその機能が変化することが知られている。この可塑的变化の基礎過程として、シナプス伝達効率の長期増強 (Long-term potentiation, LTP) が考えられている。そのような可塑的变化をおこすシナプスは、シナプス前細胞と後細胞が同期して活動したときに伝達効率が増強する Hebb タイプのシナプスではないかと推定されている。本研究では、この LTP 誘発に後細胞の興奮 (脱分極) と同期したシナプス前細胞の活動が必要であるのか、それとも後細胞のグルタミン酸レセプターの活性化と脱分極の組み合わせだけで充分なのかを検討した。この点を検討する手段として、ラット大脳皮質視覚野より調製した初代培養標本を用いた。このような標本では、細胞外の環境を容易にコントロールすることができるとともに、単シナプス性に結合した神経細胞のペアを見つけ電気生理学的測定が容易となる。さらに記録方法として、細胞内のセカンドメッセンジャーが電極内液に流出するのを防ぐために nystatin を用いた穿孔パッチクランプ法を適用した。

【方法ならびに成績】

生後 1-6 日齢のラットより視覚野に相当する大脳皮質を取り出し、神経細胞を単離調製した。単離した細胞は、あらかじめアストログリアでコートしておいたディッシュ上に蒔き少なくとも 2 週間培養した。その後培養神経細胞に穿孔パッチクランプ法を適用し膜電位を -60 または -70 mV に固定し、以下の実験を行なった。(1) 1 つの神経細胞を微小ガラス電極を用いて細胞外刺激し、近傍の単シナプス性に入力を受ける神経細胞より興奮性シナプス後電流 (Excitatory postsynaptic currents, EPSCs) を記録した。5-10 分間の試験刺激で安定した EPSC が得られた後、前細胞の刺激と後細胞の脱分極 (0 mV, 200 ミリ秒) を 1 Hz で 30 または 60 秒間組み合わせるペアリング操作を行なった。この操作により EPSC の LTP が誘発されるかどうかを観察した。(2) コントロールの実験として、2 つの神経細胞間でシナプス前細胞を刺激せず後細胞だけを脱分極させた場合、EPSC の LTP が認められるかどうかを観察した。(3) シナプス前細胞のかわりにグルタミン酸を微小電気泳動または空気圧で後細胞の樹状突起上に投与しグルタミン酸反応を記録した。シナプス前細胞の刺激なしにそのグルタミン酸投与と後細胞の脱分極を組み合わせた場合、グルタミン酸反応が有意に変化するかどうかを観察した。(1)の実験では 15 例中 7 例で明らかな EPSC の LTP が認められた。(2)の実験では 6 例検討したが EPSC の LTP は全く認められなかった。(3)の実験では 12 例中 1 例を除きグルタミン酸反応に有意な増強は認められなかった。

【総括】

大脳皮質視覚野における長期増強（LTP）の誘発にシナプス前細胞と後細胞の同期した活動が必要であるのか、それとも後細胞のグルタミン酸レセプターの活性化と脱分極の組み合わせだけで充分なのかをラット大脳皮質より調製した培養神経細胞標本に、nystatin 穿孔パッチクランプ法を適用して検討した。2細胞間の単シナプス性 EPSC を記録した後、ペアリング操作を行なったところ約半数で EPSC の LTP が誘発された。シナプス前細胞を刺激せず、後細胞の脱分極とグルタミン酸投与を組み合わせた場合、ほとんどの例でグルタミン酸反応に有意な増強は認められなかった。また後細胞のみを脱分極させた場合は、全列で LTP は誘発されなかった。これらの結果より LTP 誘発は、シナプス後細胞のグルタミン酸レセプターの活性化と脱分極だけでは不十分で、シナプス後細胞の脱分極と同期したシナプス前部の賦活が必要であることが示された。

論文審査の結果の要旨

発達期の大脳皮質視覚野では、高頻度入力後にシナプス伝達効率が持続的に増大するというシナプス伝達の長期増強が起きることが知られている。本研究は、この長期増強の誘発にはシナプス後細胞の反応と同期した前細胞の活動が必要であるかどうかを検討したものである。そのために、ラット大脳皮質視覚野より調製した培養神経細胞標本に穿孔パッチクランプ法を適用した。

2つの神経細胞間でシナプス前細胞の活動と後細胞の脱分極を組み合わせた場合、約半数で長期増強が誘発された。しかし、後細胞のみを脱分極させた場合は、全列で長期増強は誘発されなかった。また、シナプス前細胞を刺激せず、後細胞の脱分極とグルタミン酸投与を組み合わせた場合、ほとんどの例でグルタミン酸反応に有意な増強は認められなかった。これらの結果より長期増強誘発は、シナプス後細胞のグルタミン酸レセプターの活性化と脱分極だけでは不十分でシナプス後細胞の脱分極と同期したシナプス前細胞の活動が必要であることが示された。以上、本研究は、大脳皮質視覚野における長期増強の誘発メカニズムに関する新知見を示したものであり、学位に値するものと思われる。