

Title	Dependence of LTP induction on postsynaptic depolarization : a perforated patch-clamp study in visual cortical slices of young rats
Author(s)	岩本, 由美子
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/39000">https://hdl.handle.net/11094/39000</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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名	岩本由美子
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第11756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	Dependence of LTP induction on postsynaptic depolarization : a perforated patch-clamp study in visual cortical slices of young rats. (シナプス後部の脱分極に依存した長期増強の誘発—幼若ラット 皮質視覚野切片標本における穿孔パッチクランプ法を用いた研究)
論文審査委員	(主査) 教授 津本 忠治  (副査) 教授 倉智 嘉久 教授 福田 淳

#### 論文内容の要旨

##### 【目的】

発達期における大脳皮質視覚野のニューロン機能は外界からの視覚入力にともなって変化することが知られているが、その過程にはシナプス伝達効率の長期増強や長期抑圧が関与していると想定されている。過去の研究において、このような長期増強および長期抑圧はシナプス後部の興奮（脱分極）の程度に依存して誘発されることが示唆されているが、それらの研究は細胞外記録法あるいは微小ガラス電極による細胞内記録法を使用したためシナプス後部の膜電位を正確にコントロールすることは困難であった。本研究は大脳皮質視覚野切片標本にニスタチンによる穿孔パッチクランプ法を適用し、シナプス可塑性に重要であることが示唆されているセカンドメッセンジャー系を正常に保った状態でシナプス後ニューロンを電位固定することにより、長期増強および長期抑圧の誘発に必要な膜電位レベルを定量的に明らかにすることを試みた。

##### 【方法ならびに成績】

生後9-18日齢のラットより皮質視覚野の薄切切片標本(150 $\mu$ m厚)作成し、ノマルスキー透過型微分干渉顕微鏡で観察しながら、II/III層錐体細胞をニスタチンによる穿孔パッチクランプ法を用いて電位固定した。同じく顕微鏡観察下に、記録細胞の横方向にある別の錐体細胞をガラス電極を用いて電気刺激し、それによって誘発される興奮性シナプス後電流(Excitatory postsynaptic currents, EPSCs)を記録した。長期増強および長期抑圧の誘発に必要なシナプス後細胞の膜電位レベルを調べるために刺激に同期して記録細胞の膜電位を-20mV, -40mV, -60mV, -70mV, -90mVの5段階に保持するようなペアリング操作を1Hzで30~60秒繰り返し、その後シナプス伝達効率に変化するかどうかを調べた。その結果、刺激に同期してシナプス後細胞を強く脱分極させた場合、すなわち-20mVに脱分極させてペアリング操作を行った場合は15例中11例で、-40mVで行った場合は14例中5例の細胞において長期増強が観察された。入力にともないシナプス後細胞をわずかに脱分極(-60mV, n=8)させた場合、あるいは過分極(-90mV, n=9)させた場合には、長期増強および長期抑圧は誘発されなかった。またペアリング操作と同じ条件でシナプス前細胞を刺激しながらもシナプス後細胞の膜電位は静止電位付近(-70mV)に保ったままにしておいた場合には、シナプス伝達効率の変化は観察されなかった(n=8)。コントロールとしてシナプス前細胞を刺激せずにシナプス後細胞のみを脱分極させる操作においても伝達効率は変化しなかった(n=6)。以上の結果から皮質視覚野の長期増強の誘発には入力にともないシナプス後ニューロンが-40mV以上興奮することが必要であることが示唆され

た。

#### 【総括】

1, シナプス伝達効率の長期増強および長期抑圧の誘発に必要なシナプス後部の膜電位レベルを調べるために幼若ラット視覚野切片標本を作成し, そのⅡ/Ⅲ層錐体細胞を穿孔パッチクランプ法を用いて電位固定した。顕微鏡観察下, 近傍の単一細胞を電気刺激し, それによって誘発されるシナプス後電流を記録した。刺激と同期して記録細胞の膜電位を変化させるようなベアリング操作をおこない, それがシナプスの伝達効率に与える影響について検討した。

2, 記録細胞の膜電位を $-20\text{mV}$ および $-40\text{mV}$ に保持するようなベアリング操作においては多くの例で長期増強が誘発された。 $-60\text{mV}$ ,  $-70\text{mV}$ ,  $-90\text{mV}$ のベアリング操作では長期増強は観察されなかった。今回試みた $30\sim 60$ 秒のベアリング操作では長期抑圧は見い出されなかった。

3, 以上の結果から, 発達期皮質視覚野の長期増強の誘発には入力刺激にともないシナプス後ニューロンが $-40\text{mV}$ 以上に脱分極することが必要であると考えられた。今回観察したシナプスは皮質Ⅱ/Ⅲ層の錐体細胞間シナプスである。したがって本研究で見出したシナプス伝達の長期増強は皮質視覚野Ⅱ/Ⅲ層内の水平結合の発達と可塑性に一定の役割を果たしていることが推定される。

#### 論文審査の結果の要旨

発達期のラット皮質視覚野でみられるシナプス伝達効率の長期増強は高頻度入力にともない誘発されることが知られているが, その際シナプス後細胞が反応する必要があるのか, あるとすればどの程度の反応が必要なのかは明らかではなかった。本研究は, 薄切切片標本にパッチクランプ法を適用し, 長期増強の誘発に必要なシナプス後部の膜電位レベルを定量的に調べた。その結果, シナプス前部の刺激にともないシナプス後部の膜電位を $-40\text{mV}$ 以上に脱分極させた場合には長期増強が誘発されたが,  $-60\text{mV}$ 以下の場合には誘発されなかった。また, シナプス前細胞を刺激せずにシナプス後部のみを $-40\text{mV}$ 以上に脱分極させる操作では長期増強は観察されなかった。この結果はシナプス長期増強誘発にはシナプス前部の活動に同期したシナプス後部の $-40\text{mV}$ 以上の脱分極が必要なることを示しており, シナプス可塑性のメカニズム解明につながる新知見である。したがって, 本研究は学位に値するものと考えられる。