

| | |
|--------------|--|
| Title | 光計測法により解析したラット大脳皮質視覚野内の興奮伝播におけるNMDA受容体の役割 |
| Author(s) | 福田, 光洋 |
| Citation | 大阪大学, 1997, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/40025 |
| 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"〉 大阪大学の博士論文について〈/a〉をご参照ください。 |

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【6】

| | |
|------------|--|
| 氏名 | 福 田 光 洋 |
| 博士の専攻分野の名称 | 博 士 (医 学) |
| 学位記番号 | 第 1 2 9 7 2 号 |
| 学位授与年月日 | 平成 9 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 | 光計測法により解析したラット大脳皮質視覚野内の興奮伝播における NMDA 受容体の役割 |
| 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】

グルタミン酸は、大脳皮質視覚野における主要な興奮性伝達物質とされている。その受容体のうち NMDA 受容体は、シナプスの可塑性に重要な役割を果たすことが知られていたが、最近通常の視覚情報処理にも関与していることが示唆された。視覚野における情報処理は、皮質表面に対して垂直な機能円柱内と同一層内の水平な結合でなされているが、NMDA 受容体がどの部位でどの程度情報処理に関与しているのかは未だ明らかではない。この点を明らかにするには、ある特定部位の電気活動だけを記録電極により観察するという従来の方法は必ずしも適当ではない。そこで本研究では多数の部位の活動を同時に計測できる光イメージング法を用い、電気刺激により大脳皮質視覚野内に誘発した興奮伝播に NMDA 受容体がどのように関与しているかを調べた。

【方法】

生後14~30日齢のラットから厚さ400 μ mの前額断スライス標本を作成した。このスライスを膜電位感受性の蛍光色素 (RH414またはRH795, Molecular Probes) で染色後、記録槽へ移し、白質またはII/III層の電気刺激によって皮質内に誘発した興奮伝播を光計測法により二次元画像として解析した。また、光計測と同時に皮質II/III層に設置した記録電極から集合電位を記録し、標本の状態を常時モニターした。膜電位変化にともなう蛍光強度の変化は、センサー部に128 \times 128ピクセルのフォトダイオードアレイを持つカメラ (SD-1001, Fuji. Microdevices) を落射蛍光用の顕微鏡 (X 2-UD-WFL, Nikon) に取り付け、4倍の対物レンズを通して約2mm角の領域を1画像あたり1.2msecのサンプリングレートで記録した。データ解析は、薬物効果から集合電位が回復した標本に対してのみ行い、光照射による色素の退色および灌流中に色素が洗い流されたために生じたシグナル強度の減少を補正して行った。

【結果】

通常の灌流液中で白質刺激により誘発される興奮は、刺激点を中心にV/VI層に沿って水平に広がると同時に皮質表面へ垂直に向かい、II/III層に達して水平方向に伝播した。このII/III層とV/VI層に沿った水平方向の伝播は灌流液中からCa²⁺を除去すると完全に消失したのでシナプスを介した反応であることが確認された。また、灌流液中に非NMDA型グルタミン酸受容体の拮抗薬である6-cyano-7-nitroquinoxaline-2, 3-dione (CNQX) を

10 μ M 加えても同じような効果が得られたことから、この後シナプス性反応の開始には主に非 NMDA 型グルタミン酸受容体が関与していると考えられた。次に、この皮質内興奮伝播のどこに NMDA 受容体が関与しているかを調べるために灌流液中に NMDA 受容体の拮抗薬である DL-2-amino-5-phosphonovarelate (APV) 50 μ M を投与した。その結果、垂直方向と V/VI 層における水平方向の興奮伝播はほとんど影響を受けなかったが、II/III 層内の水平方向の興奮伝播は有意に減弱した。しかし、この II/III 層における変化は、興奮が白質から II/III 層に達するまでに時間がかかるための間接的な効果とも考えられた。そこで II/III 層を直接電気刺激して同様な実験を行ったが、II/III 層内で短時間に水平方向に広がる興奮伝播も APV によって有意に減弱した。さらに生理的濃度の Mg^{2+} によって抑えられている NMDA 受容体を活性化できるように灌流液から Mg^{2+} を除去した。この条件では主に II/III 層でのみ有意な興奮伝播の増大が見られ、この増大は APV でほぼ完全に抑えられた。

【総括】

以上の結果から、1) 白質電気刺激により誘発された皮質内興奮は、皮質表面に対して垂直な方向と II/III 層、V/VI 層内の水平な方向との主に二つの方向に伝播することが確認された。2) これらのうち NMDA 受容体は、主に II/III 層内の水平方向の興奮伝播に関与していることが明らかとなった。II/III 層は主に錐体細胞からなり、これらの神経細胞は他の皮質領野に投射していることが知られているので、NMDA 受容体は一次視覚野から他の皮質領野への出力を増強していることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

大脳皮質視覚野の神経回路網は主に皮質表面に対して垂直な結合と同一層内の水平な結合からなると推定されている。また、この回路における主要な興奮性伝達物質はグルタミン酸とされている。その受容体のうち N-methyl-D-aspartate (NMDA) 受容体はシナプスの可塑性に関与していることが知られているが、通常の視覚情報処理にも一定の役割を果たしていることが最近示唆された。しかし、NMDA 受容体がこの回路網のどの部位でどの程度、情報処理に関与しているかは未だ明らかではない。この点を明らかにするには、大脳皮質視覚野の神経回路網を構成する多数の神経細胞の働きを同時に調べる必要がある。そのため本研究では膜電位感受性色素による光計測法をラット視覚野の薄切切片標本に適用し、電気刺激で皮質内に誘発した興奮伝播に NMDA 受容体がどのように関与しているかを調べた。この方法によって多数の部位の神経活動をミリ秒以下の時間分解能で同時に記録することができた。

この実験の結果、白質からの興奮は視覚野内で皮質表面に対して垂直な方向と、II/III 層及び V/VI 層内の水平な方向に伝播することが確認された。また、これらの興奮伝播のうち主に II/III 層内の興奮伝播が NMDA 受容体の拮抗薬により抑制されたこと及び、NMDA 受容体チャンネルを阻害している Mg^{2+} の除去によって増強したことから、この水平方向の興奮伝播に NMDA 受容体が関与していることが判明した。さらに II/III 層の主要な構成神経細胞である錐体細胞の軸索が、他の機能コラムや遠隔の他の皮質領野へ投射しているという事実から、NMDA 受容体がこれらの出力を増強している可能性があることも示唆された。

これらの結果は大脳皮質の視覚情報処理機構における NMDA 受容体の役割をシステムレベルで明らかにしたものである。したがって、本研究は学位に値すると思われる。