

Title	Long-term depression in rat visual cortex is associated with a lower rise of postsynaptic calcium than long-term potentiation.
Author(s)	安田, 浩樹
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/40085">https://hdl.handle.net/11094/40085</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	やす だ ひろ き 安 田 浩 樹
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 1 2 9 7 3 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	Long-term depression in rat visual cortex is associated with a lower rise of postsynaptic calcium than long-term potentiation. (ラット視覚野における長期抑圧誘発時の長期増強の場合より低いシナプス後部カルシウム増加)
論文審査委員	(主査) 教 授 津本 忠治  (副査) 教 授 福田 淳 教 授 武田 雅俊

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 【目的】

発達脳視覚野では一定のパターンの入力によって、シナプス長期増強や長期抑圧が起きることが知られており、視覚野ニューロンが入力によってその機能を変えるプロセスの一部と考えられている。この長期増強や長期抑圧の誘発に、入力に伴うシナプス後部のカルシウム増加がトリガーとなることが実験的に示されているが、さらにカルシウム増加が大きいときは長期増強が、小さいときには長期抑圧が生じるという仮説（カルシウムスイッチ仮説）が提唱されている。本研究は、この仮説を検証するためラット大脳皮質視覚野のスライス標本を使用して、シナプス伝達効率変化とシナプス後部のカルシウム濃度変化を同時に計測した。

#### 【方法】

まず最初に、多数のニューロンにおけるシナプス反応と細胞内カルシウム増加を集合的に記録する実験を行った。生後20-30日齢のラット大脳皮質視覚野から厚さ約400 $\mu$ mのスライス標本を作製し、蛍光カルシウム指示薬 rhod-2 AM (10 $\mu$ M) をスライス全体に負荷した。集合シナプス反応は、IV層を0.1Hzで電気刺激してII/III層から記録した。同じIV層刺激に対するカルシウム濃度変化は、rhod-2の発する590nm付近の蛍光強度の増加で評価した。この計測はII/III層の記録電極近傍においた50 $\times$ 50 $\mu$ mの領域から行った。次に、単一神経細胞からシナプス反応とカルシウム濃度変化を同時に記録する実験を行った。生後9-18日齢のラット視覚野スライス標本のII/III層錐体細胞に rhod-2 (400 $\mu$ M) を含むパッチ電極を当て rhod-2 を注入するとともに、IV層テスト刺激に対する興奮性シナプス後電位 (excitatory post-synaptic potential, EPSP) を記録した。蛍光の変化は主に尖頭樹状突起と細胞体の10-14カ所から同時に記録した。シナプス長期変化を誘発する刺激としてIV層にシータバーストテタヌス刺激 (100Hz 4発のトレインパルス を 5 Hz で 10 回与え、それを 10 秒間隔で 5 回繰り返す) を与えた。但し、前者の実験では刺激パルス幅を 0.1 ミリ秒 (弱いテタヌス刺激) と、0.2 ミリ秒 (強いテタヌス刺激) に設定したが、後者の実験では 0.2 ミリ秒のみとした。

#### 【成績】

最初の実験では、弱いテタヌス刺激によって集合電位の振幅が持続的に小さくなる、つまり長期抑圧が観察された。

一方、強いテタヌス刺激の場合は、ほとんどのスライス標本において長期増強が誘発された。このテタヌス刺激中のⅡ／Ⅲ層における蛍光増加は、長期増強が起きたスライスのほうが長期抑圧が誘発されたスライスより有意に大きかった。次に、単一錐体細胞に rhod-2 を注入する実験では、Ⅳ層のテタヌス刺激中、尖頭樹状突起の中で細胞体から数十  $\mu\text{m}$  離れた部位にピークを持つ蛍光の増加 (hot spot) が観察された。この hot spot での蛍光強度増加は N-methyl-D-aspartate (NMDA) 受容体拮抗薬の投与で約半分に抑えられた。また、膜電位を  $-80\text{mV}$  に固定することによって、脱分極による電位依存性カルシウムチャンネル賦活を抑制し、さらに電極からリアノジン受容体拮抗薬を投与しカルシウム誘発性カルシウム放出を抑えた条件でも、テタヌス刺激による蛍光増加がみられたが、この増加は NMDA 受容体拮抗薬で完全に消失した。この結果は、樹状突起の hot spot におけるカルシウム増加が NMDA 受容体チャンネルの活性化によることを示唆している。最後に、テタヌス刺激中の樹状突起 hot spot における蛍光増加のピークと、そのテタヌス刺激によって生じたシナプス伝達効率変化の関係を調べた。長期増強が生じたニューロンの hot spot では大きな蛍光強度の増加を、長期抑圧が生じたニューロンの hot spot では有意に小さい蛍光強度の増加を観察した。

### 【総括】

以上の結果から、長期増強を誘発したテタヌス刺激中にはシナプス後部で大きなカルシウム増加が、長期抑圧を誘発した場合にはそれより小さなカルシウム増加が見られることがわかった。この結果はカルシウム増加の程度によって長期的変化の方向が決まるという、カルシウムスイッチ仮説を支持するものと考えられた。また、このカルシウム増加の少なくとも一部は NMDA 受容体の賦活によることが判明した。

## 論文審査の結果の要旨

長期増強や長期抑圧といったシナプス伝達の可塑的变化は、大脳皮質視覚野の構造と機能が生後の入力に応じて変化するメカニズムの一つと考えられている。従来の研究において、長期増強、長期抑圧は入力に伴うシナプス後部のカルシウム上昇がトリガーとなることが示されており、また、カルシウム上昇がある閾値より大きいときは長期増強が生じ、その閾値より小さいときには長期抑圧が生じるという“カルシウムスイッチ仮説”が提唱されている。本研究では、この“カルシウムスイッチ仮説”を検証するために、同一標本においてシナプス反応とカルシウム濃度上昇の同時記録を試みた点に特色がある。そのため前半の実験では、幼若ラット皮質視覚野から作成した脳切片標本にカルシウム蛍光指示薬 rhod-2 を負荷し、Ⅳ層電気刺激に対するⅡ／Ⅲ層の集合電位反応及びその近傍の蛍光強度の変化を同時記録した。また、後半の実験ではⅡ／Ⅲ層の錐体細胞内にホールセルパッチ電極を通じて直接カルシウム蛍光指示薬を注入し、シナプス反応とカルシウム濃度変化を同一細胞から計測した。その結果、シナプス反応によるカルシウム上昇の少なくとも一部は、NMDA 型グルタミン酸受容体チャンネルを通るカルシウム上昇であることが示された。さらに長期増強を誘発した高頻度刺激の時には強いカルシウム上昇が、長期抑圧を誘発した場合には弱い上昇が生じることが判明し、上記スイッチ仮説が妥当であることが実証された。

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の一端を解明した重要な知見であり、学位に値すると考えられる。