

論文審査の結果の要旨

氏名 筒井 秀和

本論文は3章からなり、第1章では新たに開発した糸球体核の *in vitro* 実験系を用いた構成細胞および入力核からのシナプス伝達の特
性の電気生理的解析について、第2章ではその特性を担うと考えら
れる細胞膜上の Na⁺チャネルの性質の解析について、第3章では膜電
位感受性色素を用いた光学的測定法により、入力繊維刺激に対する
神経核活動の二次元イメージングを行った結果について述べられて
いる。

条鰭類に属する多くの魚類の視床には糸球体核という神経核が存
在する。糸球体核は主に視覚性の情報を受け視床下部下葉へと投射
する機能的に興味深い神経核である。さらにこの神経核は、1)構成細
胞が2種と少ない(大型細胞、小型細胞)、2)解剖学的に明確な入出
力線維を持つ、3)完全に層構造化している、4)大型細胞は巨大な樹状
突起の先端を持つ、といった幾つかの際立った形態的な特徴を持つ。
これらの特徴的な形態から、糸球体核は神経回路の機能を構成要素
を同定した上で調べるのに適しており、さらに将来的には神経回路

がどのような機構でどのような機能を持つのかという問題に対する優れた実験系となりうる可能性もあると考えられる。

第1章では大型細胞樹状突起先端より微小電極による細胞内記録、大型細胞、小型細胞の細胞体よりパッチ電極による whole-cell 記録を行った。大型細胞の樹状突起先端では低い膜抵抗をもつ受動的な性質のみが観察された。次に入力繊維（皮質核繊維）を双極電極で刺激し、後シナプスの応答を解析した結果、大型細胞、小型細胞共に AMPA 受容体、NMDA 受容体、GABAA 受容体を介する興奮性及び抑制性のシナプス入力を受けることが薬理学的実験により明らかにされた。細胞体での応答の特性は両細胞で対照的であり、大型細胞はシナプス入力に対して単発の発火のみを示し、小型細胞は入力依存的に tonic な発火を示した。この特性は電極からの定電流注入にたいする応答でも同様に見られた。さらに、時間間隔を変化させながらペアの入力を与え、入力の時間的な様式に対する応答を比較したところ、大型細胞が長い時定数（ $\sim 100\text{ms}$ ）の low-pass フィルター特性を持つのに対して、小型細胞は速い入力パターンにも追従して発火した。以上の結果から、大型細胞は皮質核活動の時間的な特徴をコードし、小型細胞は入力核活動の量をコードする特徴があると考え

えられた。

第2章では、第1章で明らかになった大型細胞の細胞体における low-pass フィルター特性が細胞のどのような性質によるのかについて膜電位固定法および解析し、その結果から考えられた理論の妥当性をコンピュータシミュレーションを用いて検討した。活動電位の生成に直接関与する Na⁺チャネルの解析を voltage clamp 下で行ったところ、大型細胞の Na⁺チャネルは特に -80mV 前後で極めて大きな τ_h を持つこと明らかとなった (-80mV で $>100ms$)。さらに τ_m , τ_h , 及び steady-state activation, inactivation から m, h それぞれの α (forward time constant), β (backward time constant) を求め、これらを Boltzmann 関数、指数関数で fit 及び連続化し、シミュレーションプログラム NEURON 上でこの Na⁺チャネルの再構成を single compartment のもとで行った。その結果、この極めて大きな τ_h を持つ新規の Na⁺チャネルと、古典的な Hodgkin-Huxley 型の K⁺チャネルの組み合わせのみで、大型細胞の基本的な単発発火特性及び low-pass filter 特性が再現できた。同様の条件で小型細胞から記録された Na⁺電流はより短い τ_h を持つことが示唆され、このチャネルの特性の違いによりそれぞれの細胞の特性が形成されていると考えられた。

第3章では、糸球体核の形態的特長を活かして、他の標本では依然困難な、単一細胞の分解能で神経核の活動を膜電位感受性色素を用いて捉えられる光学的計測法を開発した。その結果、単一細胞のシナプス後電位に由来するシグナルを光学的にとらえることに成功した。

これらの論文の各章で示された研究成果は脊椎動物一般の神経核の機能を理解する上で大変重要な知見であり、論文提出者の研究成果は博士（理学）の学位を受けるにふさわしいと判定した。

なお、本論文第1章～第3章は、岡良隆らとの共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。