

(別紙1)

論文の内容の要旨

論文題目 ラット大脳皮質聴覚野における
短期シナプス抑制に関する研究

指導教官 御子柴克彦教授

東京大学大学院医学系研究科

平成8年4月入学

医学博士課程

脳神経医学専攻

氏名 辛 龍文

抑制性神経細胞は興奮性神経細胞の興奮性を調節することにより、中枢神経系機能の調節と維持を行なう。その代表的な受容体はGABAを神経伝達物質とするGABA_A受容体である。GABA_A受容体は抑制作用を持つ事はよく知られているが、ギニアピック上丘浅層では頻回刺激中の興奮性低下はGABA_A受容体アンタゴニスト存在下でむしろ増強したと報告された。

本研究では、ラット大脳皮質第一次聴覚野における連続刺激では、GABA_A受容体アンタゴニストbicucullineによって誘発されるEPSPの抑制現象(Bicuculline-facilitated synaptic depression: BFS) (Dlatt and Withington)を見出し(図4) (Shin et al. 2001)、その機構について検討した。しかしながら聴覚野は非常に複雑な構造を呈しているため、多点計測の可能なマルチチャンネル細胞外記録法(Multi Electrode Dish: MED)を用いて解析した。MEDとは中央部分の約1mm²の範囲に64個の微小電極が8×8状に配置さ

れている培養皿で、微小電極は刺激用にも記録用にも用いる事が可能なため、この上に試料を接地し色々な部位から刺激を与え同時に電気信号が記録できる装置である。私は大脳皮質聴覚野急性切片をMED上に置くことによって、第II/III～VI層とその水平方向のすべての範囲から刺激と記録を自由に行う事を可能とした(図1)。この装置を用いて第IV層を50-1000 ミリ秒間隔の連続刺激を与え、第II/III層からEPSPを記録した。2回目のEPSP (2nd EPSP) は1回目 (1st EPSP) に比べ、約250 ミリ秒で著明に減弱していた (Paired-pulse depression: PPD)。その機構として興奮性受容体と共に存在する抑制性受容体が1回目の刺激で活性化され、この効果が2回目の刺激時にEPSPを減少させると考えられてきた。実際ラット海馬では50ミリ秒及び200-300ミリ秒の間隔で得られたPPDは、それぞれBicuculline、2-OH-saclofen(GABA_B 受容体アンタゴニスト)により緩和される。大脳皮質で認められるPPDも海馬と同様に抑制系受容体の活性化によるものと考えられたため検討した。まず2-OH-saclofenの投与により上記のPPDは緩和された (図2)。次にBicuculline投与を行うとPPDはむしろ増強し、その効力は約75% (50ミリ秒間隔) ほどEPSPを抑制し持続時間は1-2秒と長かった (BFSD) (図3, 4)。BFSDの機構へのGABA_B 受容体の関与を調べるため2-OH-saclofenによる変化を調べると、250 ミリ秒間隔で著明であった。(図4)。これは標準人工脳脊髄液中 (図2) での2-OH-saclofenによるシブス抑制と比べ時間間隔も程度も同じであったためBFSDの成因にGABA_B 受容体活性化は否定的であった (図2, 4)。

Bicuculline 還流により 1st EPSP そのものには変化は認められなかったが、引き続き slow component (矢印、図3) が出現した。BFSD と slow component の因果関係について検討した。第IV層への電気刺激を与えると (S8, 図5 上部) その直上部位にシブス反応が記録されるが、Bicuculline 存在下では slow component が記録電極8から1へと伝播していた (図5 上部)。このようにMEDを用いて、S8を刺激してS1へslow component だけを入力させ、50ミリ秒後にS1を刺激した時のEPSPは、S1で2発連続刺激した2nd EPSPと同様に抑制されていた事から、

slow component は BFSD の成因に関与すると示唆された。ラット大脳皮質聴覚野第 III 層において GABA 作働性介在ニューロンにより NMDA 受容体成分の電位が抑制されているため、slow component に NMDA 受容体成分の関与を調べた。

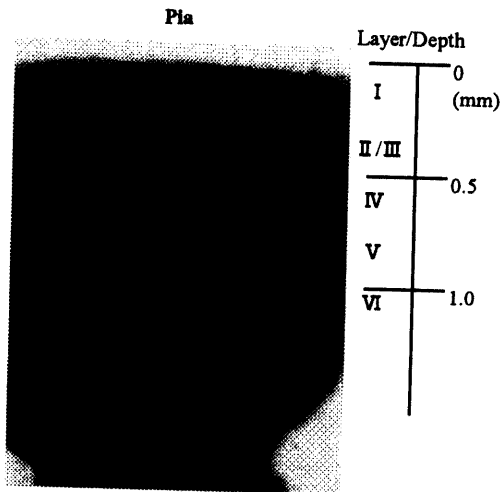


図 1. MED 上の大脳皮質
聴覚野の急性切片の配置図

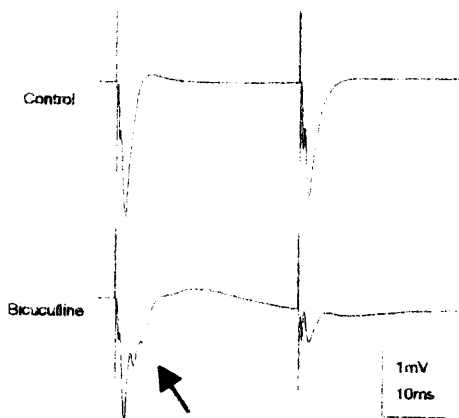


図 3. Bicuculline-facilitated
synaptic depression (BFSD)

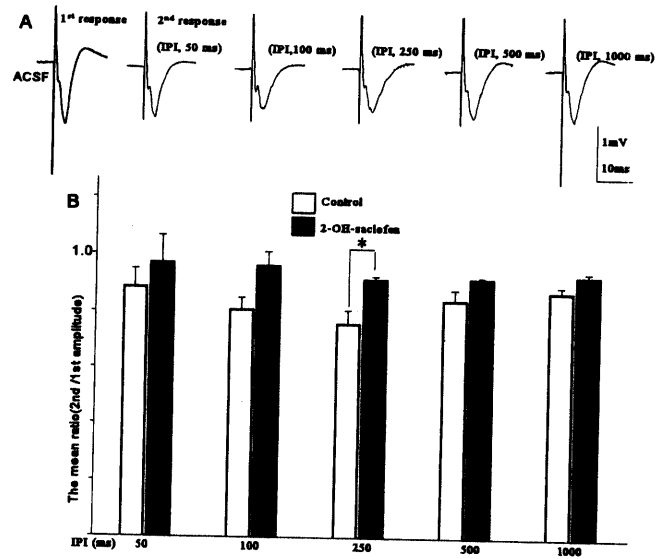


図 2. 標準人工脳脊髄液での PPD に対する GABA_B
受容体の効果 * P < .05 (paired t-test)

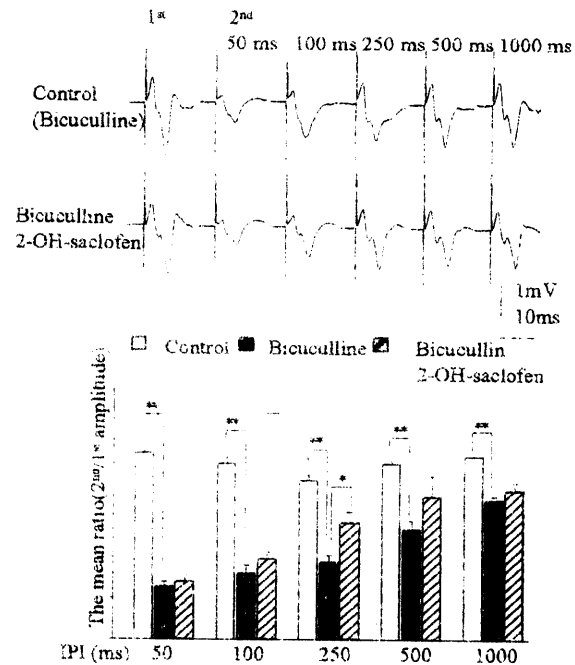


図 4. BFSD に対する GABA_B 受容体の効果と BFSD の
持続時間 * P < .05 ** P < .01 (paired t-test)

図6のようにD-AP5環流後、slow componentとBFSDは幾分減少した。D-AP5は1st EPSPに直接関与しないためBFSDの緩和はslow componentが減弱した結果に基づくものと示唆される。NMDA受容体は錐体細胞間シナプスに多く、錐体細胞間のNMDA受容体の活性が内側膝状体からの興奮性入力を抑制する可能性があると考えられる。

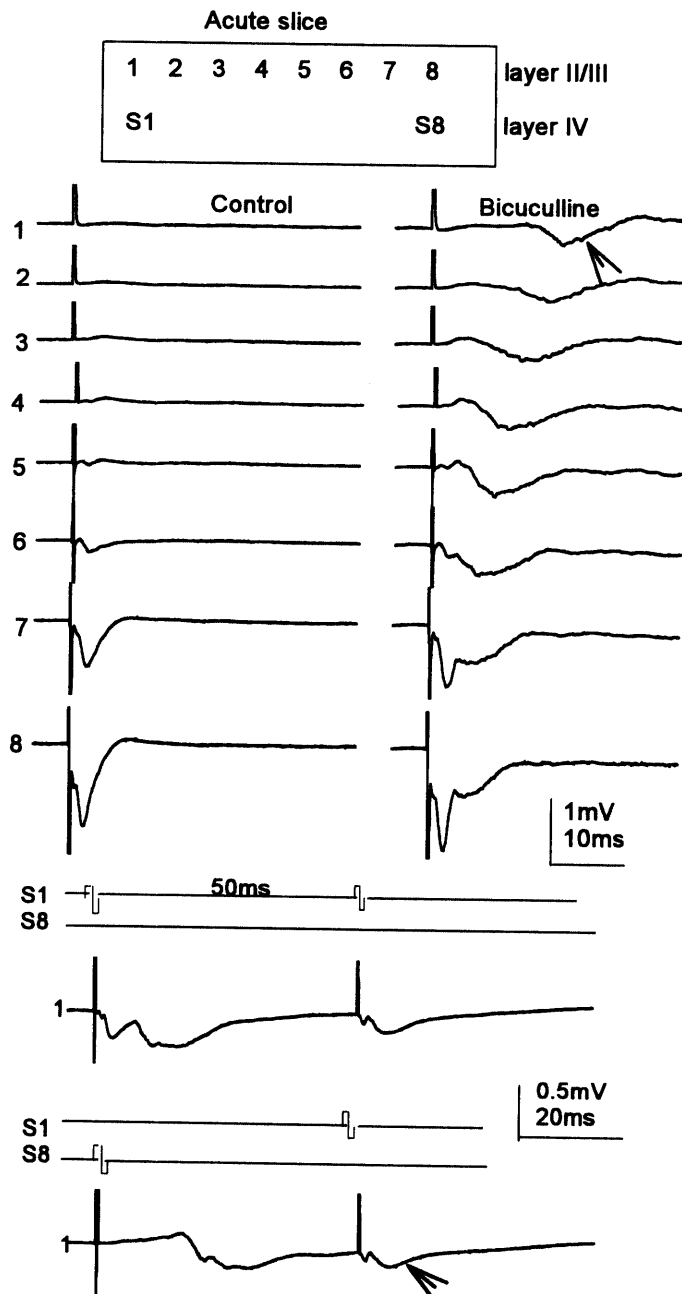


図5. BFSDに対するslow componentの影響

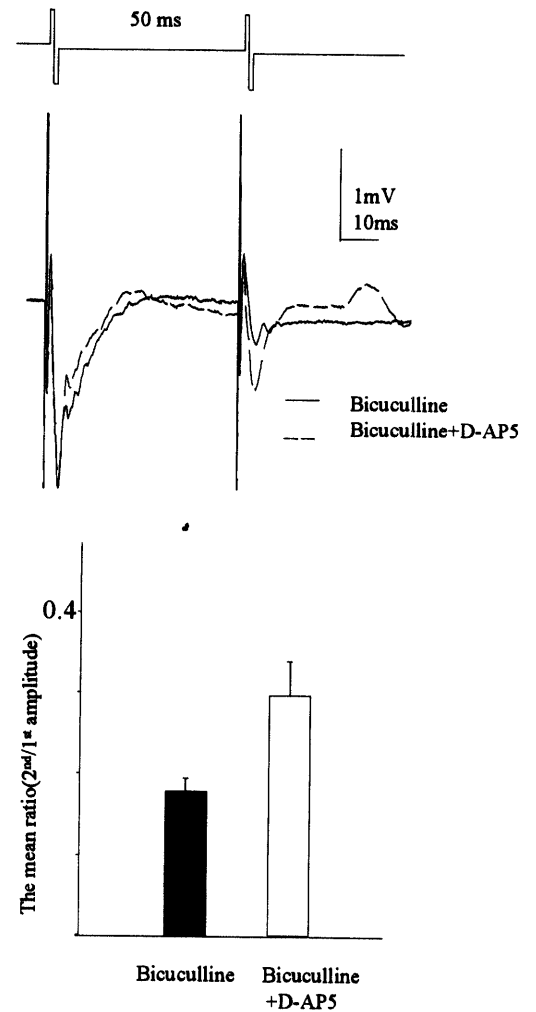


図6. BFSDに対するNMDA受容体の影響