

## 審査の結果の要旨

氏名 上山 勉

本研究は皮質脊髄路 (CST) シナプスの形成過程を明らかにすることを目的に *in vivo* の条件下で電気生理学的・形態学的手法を用いて正常発達早期の形成過程を明らかにしたのもで、結果は下記の通りである。

### 1. CST シナプスの細胞外電位の同定

過去に CST シナプスの細胞外電位 (fEPSPs) について明確に論じた報告はない。本研究ではラット延髄錐体で CST を刺激し、下部頸髄 C7 より反応の記録を行った。主として小さな陽性波に続く大きな陰性波と次に緩徐な陽性波が続く三相波が記録され、記録部位に対する CNQX・APV 混合液、コバルト溶液の局所注入で大きな陰性波は減弱したことからシナプス電位であると考えられた。また 2-3Hz の刺激に対する一つ一つの反応の潜時・振幅・波形は安定していて単シナプス性の反応であることが示唆された。推定された伝導速度は既に知られている成熟ラットのもと比べて遅いが、幼若期の線維が小径で髄鞘が未熟であることを考慮すれば合理的なものであり、以上から陰性波は CST シナプスの活動によるグルタミン酸作動性の単シナプス性の fEPSPs と結論した。

### 2. CST シナプスの fEPSPs の脊髄内分布の発達早期の変化

生後 7 日令 (P7) で C7 の脊髄灰白質全体に陰性の fEPSPs が認められたが、P8 では最腹側の電位が陰性から陽性に極性が逆転し、P9 以降この逆転が背側方向に

拡大して陰性の fEPSPs は P10 で背内側に限局した。腹側の陽性電位は peak の潜時が陰性の fEPSPs とほぼ一致しており、背内側から腹外側方向に従って位相が逆転していく様子から陰性電位が電流の「流れ込み」(sink)であるのに対してこの陽性電位は電流の「湧き出し」(source)であると考えた。従って一時的にシナプスが脊髄全体に分布したあと腹外側からのシナプスが除去されることが示唆された。

### 3. CST 神経終末の分布の発達早期の変化

Biotin Dextran を用いて CST 終末を順行性標識した。P7 では脊髄全体に終末が分布しているが、P8 で腹外側から除去されていて P10 で最も減少した。背側の終末は発達早期では大きく変化はしなかった。神経終末と前シナプスに存在する synaptophysin の免疫二重染色では P7 の腹外側の終末にもシナプスが存在することが示された。以上から CST シナプスの fEPSPs の検討から示唆された腹外側のシナプスの除去が形態学的に支持された。

P7 では CST シナプスが脊髄灰白質全体に彌慢性に分布しているが、P8 から脊髄腹側よりシナプス除去が始まり、P10 で背内側に限局した成熟した分布パターンとなることが示された。新生ラットの感覚運動皮質と脊髄のスライスを共培養系で、CST を *in vitro* で再構築する先行する研究では 7 days *in vitro* (DIV) でシナプスが脊髄スライスの灰白質に彌慢性に存在するが、9DIV で腹側より消退が始まり 12DIV で背側に限局することが見出されている。本研究で *in vivo* でも時間的・空間的に同様な経過であること示されたことは重要なことであり、今後の CST の発達の研究、さらにはその再生の研究の基礎となるもので学位の授与に値するものと考えられる。