

氏名	きたうらひろき 北浦弘樹
学位	博士(医学)
学位記番号	新大院博(医)第53号
学位授与の日付	平成17年 3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
博士論文名	Activity-dependent persisting modification of polysynaptic neural circuits involving layer V pyramidal neurons in rat auditory cortex <i>in vitro</i> (ラット聴覚野5層錐体細胞における活動依存性の多シナプス性神経回路網の可塑性)
論文審査委員	主査 教授 崎村建司 副査 教授 澁木克栄 副査 教授 那波宏之

#### 博士論文の要旨

長期増強や長期抑圧などのシナプス可塑性は記憶・学習などの脳内高次情報処理に大きな役割を果たすとされる。これまでシナプス可塑性の研究はそのメカニズムの解明に重点が置かれ、主に単シナプスレベルにおける解析が進められてきた。しかし脳内では膨大な数のシナプスから成る神経回路網によって脳機能が営まれていることからすると、単シナプスレベルでの知見と実際の記憶・学習のメカニズムとの間には大きな隔りがある。そこで本研究はラット聴覚野スライス標本における五層の多シナプス性神経回路網をパッチクランプ法により解析し、神経回路網の特性が可塑性によってどう影響されるかについて研究した。

ラット聴覚野スライス標本の五層錐体細胞からパッチクランプ法を用いて細胞内電位を記録し、低濃度のGABA<sub>A</sub>受容体阻害剤であるビククリン存在下で0.1 Hzという低頻度の刺激を繰り返し加えると、徐々に興奮性シナプス後電位の振幅と持続時間が増強した。この増強は刺激開始後約10分で飽和に達し、刺激を続けている限り増強された状態は持続するが、刺激を中断すると急速に減衰し、約5分で1/3程度、約30分でほぼ完全に元の状態に戻った。また、増強前後で、単シナプス成分であるシナプス電位の初期の立ち上がり速度に変化が無いことから、多シナプス性の増強である可能性が強く示唆された。また増強を誘導する際に過分極通電を行って記録細胞の脱分極を電気的に抑制しても増強が生じること、記録細胞のみを繰り返し細胞内通電によって脱分極させても全く増強が起こらないなどの性質が明らかとなった。さらにカルシウムイメージングにおいて増強により興奮する領域が水平方向に著明に広がることなどから、この増強は単一細胞レベルの現象ではなく、多シナプス性神経回路網における増強であると考えられる。シナプスの可塑性についてはNMDA型受容体の活性化がその成立に重要であるとされているので、NMDA型受容体の特異的阻害剤であるAPVを用いて実験を行い、この増強がAPVでほぼ完全に

阻害されることを明らかにした。増強の特性についてさらに検討を進めた結果、聴覚野五層の錐体細胞では大きな増強が見られるものの、同じ聴覚野でも二・三層錐体細胞や視覚野の錐体細胞では有意に増強が小さいことが判った。また刺激周波数によって増強パターンが変化することも明らかとなった。ビククリンを用いない生理的な状態では多シナプス性の伝達が伝わりにくくなるため、5発の閾値直下の連発刺激を0.1 Hzで繰り返して各々に対する活動電位の発火頻度について検討することとした。その結果ビククリン非存在下でも発火頻度が増加し、この増強がビククリン存在下の増強と同じ時間経過で生ずること、またAPVで阻害されることが明らかとなった。

本研究で見られた多シナプス性増強は、繰り返し刺激によって多シナプス性神経回路網の各シナプスで次々と増強が生じた結果、五層の錐体細胞からなる神経回路網の一部に反響回路が形成されたと思われる。このような反響回路の形成によって本研究で見られた多彩な現象が生じると考えられる。また本研究の増強が聴覚野の五層の錐体細胞に特徴的に生じ、しかも生体内でも十分起こり得る程度の低頻度刺激で誘導されたことなどから、聴覚野を場とする記憶・学習現象のメカニズムの一部として寄与している可能性が高いと思われる。

#### 審査結果の要旨

本論文は、ラット聴覚野のスライス標本で *perforated patch clamp* 法を用いて5層の多シナプス性神経回路網の可塑性について研究を行い、特徴的な活動依存性の短期増強が起こることを見出し報告している。この増強は低濃度の  $GABA_A$  阻害剤であるビククリン存在下でよく起こり、5層内で0.1 Hzという低頻度の単発刺激を繰り返し加えるだけで徐々に増強し、約10分で飽和に達する。この可塑性は刺激依存性が強いものであるが、様々な検討から多シナプス性におこる増強であることが明らかにされている。さらに  $Ca^{++}$  imaging をおこない、この増強が単一細胞での可塑的変化ではなく、多シナプス性の神経回路による調節であることを支持する結果を得ている。多シナプス性増強は、繰り返し刺激によって各シナプスで次々と増強が生じた結果、全体として反響回路が形成されることにより生じるものと考えられる。これは生体内でも十分起こり得る程度の低頻度刺激で誘導されるため、実際の記憶・学習への寄与が示唆される。以上、刺激依存的な神経回路の可塑性に新たな知見を見出したことに本論文の学位論文としての価値を認める。