



The effects of ablation of the visual cortical area on the formation of LTP in the superior colliculus of the rat

柴田, 裕次

(Degree)

博士（医学）

(Date of Degree)

1991-03-31

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲0963

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1000963>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



氏名・(本籍) しばたゆうじ (兵庫県)
 学位の種類 医学博士
 学位記番号 医博い第724号
 学位授与の要件 学位規則第5条第1項該当
 学位授与の日付 平成3年3月31日
 学位論文題目 The effects of ablation of the visual cortical area on the formation of LTP in the superior colliculus of the rat
 (ラット上丘における長期増強(LTP)形成に対する、大脳皮質視覚領野切除の効果)

審査委員 主査教授 岡田安弘
 教授 松本悟 教授 住野公昭

論文内容の要旨

[緒言]

LTP (long-term potentiation, 長期増強) は、シナプス前線維の頻回刺激 (テタヌス刺激) により、シナプス後電位の振幅が増大する現象を言い、1973年、Bliss と Lømo によって海馬において発見された。海馬が記憶の形成機序に関与すること、さらにLTPがシナプスの可塑性を示す一つのモデルと考えられることから、海馬でのLTPの発現の機序にのみ大きな興味が注がれてきた。しかしこのLTPは海馬以外の部位、すなわち大脳皮質や辺縁系にも存在することがわかってきた。我々は、モルモット上丘の切片を用いてLTP現象の存在を確かめ、そのメカニズムに関する報告を行なってきた。本論文においては *in vivo* でラットの上丘においてもLTPが惹起されることを確認し、このLTPの発現が同側の大脳皮質視覚領野から抑制を受け、その介在ニューロンがGABA作動性であることを明らかにした。

[対象・方法]

実験には雄 Wistar 系ラット (200~300 g) を用い、ウレタン麻酔下に気管切開を行い、ガラミン投与にて不動化し人工呼吸を行なった。麻酔深度をモニターするために、前足刺激による知覚誘発電位 (sensory evoked potential, SEP) を大脳第一次感覚野表面より記録した。ウレタン投与後5分でSEPの振幅は麻酔前の約30%に低下し、3時間以上安定して続いた。実験はこの条件のもとでウレタン投与後1~2時間の間に行なった。

ラットの頭部を定位手術装置に固定し、上丘直上に当たる部分の開頭を施行した。まず双極刺激電

極で穿刺し、先端を上丘直前の網膜視蓋路の視神経線維上に置き、続いてタングステン単極記録電極を上丘の浅灰白質層に当たるよう大脳皮質表面から電位をモニターしながら刺入した。テスト刺激としては持続時間 $100\mu s$ の矩形波を5秒に1回加えた。

視神経刺激により、上丘からシナプス後電位が記録されるが、記録電極を深部へ進めるにつれ波形が変化した。LTP形成の指標として、上丘表層から記録される大きな陰性電位（b波）に注目した。b波の記録される位置で電極を固定し、刺激強度をb波が最大反応の $\frac{1}{2}$ の振幅で記録できるよう刺激の強さを調節した。20分以上安定した電位の得られることを確認した後、同じ刺激電極によりテタヌス刺激を行ないLTP形成を調べた。上丘スライスでは50Hz、10秒間の刺激で最も著明なLTPが見られるところから、50Hzで10秒、50Hzで20秒、100Hzで5秒、100Hzで10秒、100Hzで20秒、200Hzで5秒、200Hzで10秒の刺激を行ない、どの刺激でLTPが最も著明に起こるかを検討した。

次に電位記録している上丘と同側の大脳皮質視覚領野を除去した後、同側の上丘で同様の刺激を行なった。さらにGABAのアンタゴニストであるピクロトキシン（2.5mg/kg腹腔内）投与の後に視神経にテタヌス刺激を加えLTP形成を調べた。

[結果]

- (1) 上丘は構造的に明確な6層構造をなしている。視神経を刺激して上丘で記録される誘発電位について、上丘表層からは陰性の誘発電位（b波）が記録され、記録電極を深部に進めるにつれて陰性の電位は陽性に変化していく。表層より2mmを過ぎると異なった潜時で（a波）－（b波）－（c波）の3相性の電位が記録される。a波は視神経そのものに由来する直接誘発電位であり、b波、c波は浅灰白質層のニューロン活動によるシナプス後電位であると考えられる。とくに誘発電位の潜時、諸性質から我々が上丘切片で浅灰白質層でLTPの研究に関して用いた陰性波が、この実験で得られたb波に相当するので、本実験ではLTP形成に関する指標としてb波に注目して解析した。
- (2) 脳切片でのLTP形成のための最適刺激条件を参考にして、大脳皮質を切除していない正常ラットについて以下のような条件のテタヌス刺激を視神経層に加えた。すなわち、50Hz、10秒（n=3）、50Hz、20秒（n=4）、100Hz、5秒（n=3）、100Hz、10秒（n=5）、100Hz、20秒（n=3）、200Hz、5秒（n=4）、200Hz、10秒（n=4）のテタヌス刺激を加えた。しかし、いずれの条件下においても浅灰白質層の表面から記録されるb波の振幅の増大はみられず、LTPは形成されなかった。
- (3) 上丘浅灰白質層には、同側の大脳皮質視覚領野のニューロンからの神経終末が投射しているが、同側大脳皮質視覚領野の条件刺激で網膜視蓋路の刺激により惹起される電位が抑制されていることが知られている。このことからLTPに関しても同様の大脳皮質からの抑制機構が存在する可能性があるため、同側視覚野を切除した後に視神経層にテタヌス刺激を加えた。100Hz、10秒の刺激で7匹中5匹においてb波の振幅が漸時増大し、20分後に電位はもとの約150%となり顕著なLTPが観察された。しかし、50Hz、20秒（n=4）、100Hz、5秒（n=3）、100Hz、20秒（n=4）、200Hz、5秒（n=4）の刺激ではLTPを起こすことはできなかった。
- (4) 上丘浅灰白質層には抑制性の介在ニューロンが存在し、それがGABA作動性であることが知られ

ている。同側の大脳皮質からの上丘浅灰白質層への投射は、その神経終末が浅灰白質層の深層のニューロンを興奮させ、それが浅灰白質層のGABA介在ニューロンを介して視神経からの興奮に抑制的に作用していると考えられる。このことから、GABA作動性ニューロンの活動を抑制した時のLTP発現を調べた。すなわち、GABAアンタゴニストであるピクロトキシン（2.5mg/kg i.p.）を投与した後、10分後に視神経層に100Hz、10秒のテタヌス刺激を加えたところ、7匹中4匹のラットにおいて浅灰白質層で誘発されるシナプス電位にLTP現象が誘発された。

(5) 以上の結果は、in vivoにおいても視神経のテタヌス刺激で浅灰白質層で誘発されるシナプス電位にLTPが惹起されるが、同側の大脳皮質視覚領野からの投射が浅灰白質層内のGABA介在ニューロンを介してLTPの形成を抑制している可能性を示唆している。

[考察]

LTPはシナプスの可塑性を電気生理学的に捉えたものとして、そのメカニズムに関して種々の研究がなされている。我々はモルモット上丘のスライスを用いて、上丘にもLTPが形成されることを報告し、神経伝達物質と受容体の関与についての研究を進めてきた。しかし今日に至るまで in vivoでのLTPに関しては何の報告もされていない。本論文において、in vivoでラットの上丘においてもLTP現象の存在することを見出し、しかもそれが同側大脳皮質視覚領野からの抑制を受けており、その抑制がGABA作動性介在ニューロンを介してなされていることを明らかにした。

上丘浅灰白質層への神経入力は主として視神経からの線維であるが、これに加えて大脳視覚領野からの線維（皮質視蓋路）が浅灰白質層内の深部に存在する興奮性ニューロンにおわり、それがGABA作動性の抑制ニューロンを介して視神経からの入力情報に抑制的に作用している。同側の大脳皮質視覚領野除去ラットでのみLTP発現が見られることは、同側大脳皮質視覚領野のニューロンの興奮が上丘浅灰白質層でのLTP形成を抑制していることを示している。

浅灰白質層上層部には、GABA介在神経細胞が多数存在する。このGABA作動性ニューロンの働きを抑制する目的でピクロトキシンを投与したところ、大脳皮質を切除しなくとも視神経のテタヌス刺激でLTPが見られた。これらのこととは in vivo 脳において、上丘浅灰白質層で視神経のテタヌス刺激で惹起されるLTPは、同側の大脳皮質視覚領野から投射する線維によってその形成が常に抑制されること、しかもこの抑制がGABAニューロンを介して成されることを示している。何ら処理しない正常ラットの上丘浅灰白質層でLTPが惹起されない理由は、浅灰白質層ニューロンが大脳皮質からの影響を受けているためであると考えられる。

上丘は視覚、聴覚、知覚、運動などの統合部位であり、眼球運動や注視の調節に重要な働きをしているといわれる。そこで本研究において発見された in vivo でのLTP形成が統合作用としての眼球運動や注視をどのように変容するから明らかにすることは、視覚系情報処理の機構を解明するうえで重要な意義をもっており、さらに本論文で網膜-上丘、大脳皮質-上丘、GABA介在ニューロンとLTP形成の関係が明らかになったことは、その情報処理解析に重要な示唆を与えていた。

論文審査の結果の要旨

LTP (long-term potentiation, 長期増強) は、海馬で発見され、記憶に関するシナプスの可塑性を示すモデルとして注目されている。しかし、LTPは *in vivo* で上丘において惹起されることが、我々の研究室で発見された。本論文においては *in vivo* のラットの上丘にも視神経のテタヌス刺激で

LTPが形成されることを見出し、しかもこのLTPの発現が同側の大脳皮質視覚領野から抑制を受け、その介在ニューロンがGABA作動性であることを明らかにした。

実験には雄 Wistar 系ラットを用い、ウレタン麻酔下に行なった。まず大脳第一次感覚野から記録されるSEPを測定し、麻酔深度をモニターした。視神経線維を刺激し、上丘表面から誘発されるシナプス電位である b 波の振幅を指標にしてLTP形成の研究を行なった。

脳切片で得られたLTP形成のための最適条件を参考にして種々の条件のテタヌス刺激を視神経に加えた。すなわち、50Hz, 10秒；50Hz, 20秒；100Hz, 5秒；100Hz, 10秒；100Hz, 20秒；200Hz, 5秒；200Hz, 10秒のテタヌス刺激を視神経に加えたが（各群、3～5匹），いずれの条件下においてもLTPは見られなかった。

上丘浅灰白質層には、同側の大脳皮質視覚領野のニューロンからの神経纖維が投射しているが、これが網膜視蓋路の刺激で誘発される上丘でのニューロン活動を抑制することが知られている。LTP形成に関しても同様の抑制機構が存在する可能性があるため、同側視覚野を切除した後に視神経層にテタヌス刺激を加えた。100Hz, 10秒の刺激で7匹中5匹においてb波の振幅が増大し、20分後に電位はもとの約150%に増大し、顕著なLTPが惹起された。また上丘浅灰白質層に存在する介在ニューロンがGABA作動性であり、これを介して同側大脳皮質からの上丘抑制が作動している可能性があるため、GABAアンタゴニストであるピクロトキシン (2.5mg/kg i.p.) を投与した後、100Hz, 10秒のテタヌス刺激を加えたところ7匹中4匹のラットでLTP現象が見られた。これらの結果から、*in vivo* 脳において、上丘浅灰白質層で視神経のテタヌス刺激で惹起されるLTPは、同側の大脳皮質視覚領野から投与する線維によってその形成が常に抑制されていること、しかもこの抑制がGABAニューロンを介してなされることが明らかになった。

上丘は視覚、聴覚、知覚、体性感覚の情報処理を通して眼球運動や注視を制御している部位であり、上丘でのLTPの生理的意義を追求することはきわめて重要である。本論文は従来報告されなかった *in vivo* でのLTPが上丘において形成されること、しかもこの上丘LTPが同側大脳皮質視覚領野からの情報によって、上丘浅灰白質層内のGABA作動性介在ニューロンを通して調節されていることを明らかにしたものであり、上丘における情報処理にLTPがどのように関与するかという研究に重要な知見を与えるものとして価値ある集積である。

よって本研究者は医学博士の学位を得る資格があると認める。