



Ipsilateral corticotectal pathway inhibits the formation of long-term potentiation(LTP)in the rat superior colliculus through GABAergic mechanism

平井, 宏和

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

1994-03-31

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲1256

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1001256>

※ 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）	ひろ い ひろ かず 平 井 宏 和	（奈良県）
博士の専攻分野の名称	博 士（医 学）	
学位記番号	博い第885号	
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当	
学位授与の日付	平成6年3月31日	
学位論文題目	Ipsilateral corticotectal pathway inhibits the formation of long-term potentiation (LTP) in the rat superior colliculus through GABAergic mechanism （ラット同側大脳皮質－上丘路はGABA作動性機構を介して上丘の長期増強（LTP）形成を制御する）	
審 査 委 員	主査 教授 岡 田 安 弘	
	教授 河 野 通 雄	教授 西 塚 泰 美

論 文 内 容 の 要 旨

《研究目的》

高次神経機能の1つである記憶学習の神経機序の中でシナプスの可塑性が注目されている。特にその中でもシナプス前線維のテタヌス刺激によってシナプス伝達を長期にわたって促進させる長期増強（LTP）は海馬を中心に研究され、記憶、学習の基礎過程の1つと考えられている。

我々は現在までの報告において上丘浅灰白質層で顕著に誘発されるLTPの諸性質と機序について上丘切片を用いて得た結果を報告してきた。本論文ではin vivo ラットにおけるLTPの発現を確認し、その発現が同側大脳皮質から上丘への興奮性入力による上丘内GABA作動性介在ニューロンを介して制御を受けており、その抑制系を除去した時に顕著なLTPが発現することを明らかにした。記憶の基礎過程としてのシナプスの可塑性の意義を考える上で上丘でのLTPの機序を明らかにして行くことは、このLTPが視覚系、聴覚系、感覚系の統合機能をもつ上丘がその主な出力表現である眼球運動をどのように修飾するかを明確にすることになり、高次神経機能の解析の一ステップとして重要な意味をもつものと考えられる。

《方 法》

In vitro 実験

ウイスター系ラット（250～300 g）から上丘を取り出し厚さ400～600 μ mの傍矢状断切片を作製した。上丘視神経層を電気刺激し、上丘浅灰白質層よりガラス電極（抵抗5 M Ω ）を用いてシナプス後電位（集合電位、PS）をオシロスコープにて記録した。刺激は最大PSの1/2の振幅が得られる強度に設定した。テタヌス刺激を与える前20分間安定な電位が保たれることを確認した後、テタヌス刺激を与えた。テタヌス刺激は50Hz、20秒の条件で行なった。

In vivo 実験

ウイスター系ラット（250～300 g）をウレタン麻酔（1.2～1.2 g/kg i.p.）し脳固定装置に固定し、左大脳皮質視覚野の上部を開頭した。被覆したタングステン製双極刺激電極をステレオタキシッ

クに反対側視神経に刺入するとともに別の双極刺激電極を同側大脳皮質視覚野上に固定した。記録電極にはガラス電極（抵抗10M Ω ）を用いステレオタキシクに左上丘に刺入した。刺激は上丘で記録されるP Sの最大反応の1/2の振巾を得られる強さに固定した。テタヌス刺激を与える前20分間安定な電位が保たれることを確認した後テタヌス刺激を与えた。テタヌス刺激は50Hz、20秒の条件で行なった。

GABA定量

上丘内 γ -アミノ酪酸（GABA）の定量は、上丘組織を400 μ lの冷却した0.5M過塩素酸と1mMEDTAで処理、ホモジナイズした後に遠心（2500 rpm, 15分）し、上清を2MKHCO₃で中和し再遠心した上清をGABA定量に用いた。GABAの定量は酵素的に蛍光光度計を用いて定量した。過塩素酸処理後の組織蛋白はLowryの方法にて定量した。

《結 果》

上丘切片において上丘神経層の刺激で浅灰白質層にP Sが誘発された。上丘視神経層に50Hzで20秒間のテタヌス刺激を加えるとP Sの振巾はもとの140~150%に増大し、上丘切片におけるLTPの形成が確認された。

In vivo ラットで反対側の視神経刺激後に上丘浅灰白質層において4~6 msecの潜時をもつ陰性のシナプス後電位（P S）が誘発された。このP Sは記録電極を浅灰白質層表面から視神経層方向へ約200 μ m垂直に進めると陽性へ反転した。P Sが反転する付近ではユニットの放電がP S上に頻繁に記録された。このP SはSeftonが報告したC₂波および上丘切片で記録されるシナプス後電位に一致するものと考えられ、これをin vivo 上丘におけるLTP誘発の指標とした。大脳皮質視覚野を刺激すると上丘浅灰白質層で視神経からの電位を記録している電極に4~10 msecの潜時をもつ集合電位が記録された。

同側大脳皮質視覚野の条件刺激後50 msecで視神経を刺激すると浅灰白質層で記録されるP Sの振巾は著明に抑制された。逆に視神経の条件刺激後視覚野の刺激で誘発される浅灰白質層におけるP Sも抑制された。この視神経—上丘浅灰白質層及び大脳皮質視覚野—上丘浅灰白質層の間の抑制性の相互作用は、条件刺激とテスト刺激の間隔が約20から350 msecにわたって認められた。

この抑制に関して我々は、上丘内に高濃度GABA及びGADが存在し、それが主にGABA介在ニューロンによることを報告しており、大脳皮質刺激による、あるいは視神経刺激による相互抑制が上丘内GABA作動性介在ニューロンを介してなされている可能性があることに注目し、以下の研究を行なった。すなわちこの相互作用に対するGABA受容体拮抗剤であるピクロトキシンあるいはGABA合成酵素阻害剤であるメトキシピリドキシンの効果について検討した。ピクロトキシン(2.5 mg/kg)を腹腔内に投与したところ、約3分後より視神経—上丘浅灰白質層、大脳皮質—上丘浅灰白質層の間の抑制性の相互作用は消失しはじめ、ピクロトキシン投与後30分では視神経刺激による上丘の誘発電位に対する大脳皮質視覚野の抑制はほとんど認められなくなった。同様に視神経の条件刺激が大脳皮質視覚刺激で上丘浅灰白質層に惹起されるP Sに及ぼす抑制もピクロトキシン投与によって消失した。

In vivo における視神経へのテタヌス刺激によるLTP形成は通常きわめて誘発が困難であるが、上記のようなピクロトキシンを処理した状態で視神経にテタヌス刺激を与えると顕著なLTP形成がされた。

次にGABA合成酵素GADの阻害剤であるメトキシピリドキシン（150 mg/kg）を静注した際

にも同様に、視覚野刺激で視神経刺激による上丘P Sへの抑制が消失した。メトキシピリドキシン投与40分後に視神経にテタヌス刺激を加えるとLTP形成が認められた。この時の上丘浅灰白質層のGABAの量を測定したところ、対照群のGABA濃度の約60%に減少していた。

さらに、同側の脳皮質視覚野の上丘におけるLTP形成抑制に対する影響を調べるために同側の脳皮質視覚野を取り除き、視神経にテタヌス刺激を加えると明瞭なLTPの形成が認められた。これらの諸事実はin vivo ラットの脳皮質視覚野の上丘におけるLTPの形成が同側脳皮質視覚野からの入力によって上丘内GABA作動性介在ニューロンを介して抑制されており、機能的にその抑制が解除された時に顕著なLTPが発現されることを示唆している。

《考 察》

我々はこれまでモルモットの上丘切片におけるLTP形成を報告しているが、今回in vivo ラットの脳皮質視覚野の上丘においてもLTPが形成されることを報告した。in vivo ラット上丘においては通常の状態ではLTPは誘発され難い。これは上丘浅灰白質層の上層に存在するGABA作動性の介在ニューロンによる抑制に起因するものと考えられる。ちなみにin vitro 上丘切片を用いた研究では灌流液にGABAを加えるとLTP形成が抑制され、GABA受容体拮抗薬のビクロリンを加えた場合はLTP形成が促進される。また、in vivo ビクロトキシシンあるいはメトキシピリドキシシン投与後に視神経にテタヌス刺激を加えるとLTPが惹起されたことはGABA作動性介在ニューロンが上丘においてLTP形成を制御していることを強く示唆するものと考えられる。

本研究において我々は、ラットの視覚野、反対側視神経の刺激による上丘浅灰白質層の反応に対して抑制性相互作用が存在することを明らかにした。この抑制性の相互作用は、上丘浅灰白質層に存在する同じGABA作動性の介在ニューロンの活性化によるものと考えられる。事実この抑制はビクロトキシシンあるいはメトキシピリドキシシンで消失した。また同側脳皮質視覚野除去によってLTPが惹起されたことより、視覚野からの入力によって活性化される上丘浅灰白質層にGABA作動性ニューロンがLTP形成を阻害しているものと考えられた。

以上のことから視神経へのテタヌス刺激が一方では同側の外側膝状体膝状体を介して脳皮質視覚野のニューロンを活性化させ、その興奮性投射が同側上丘浅灰白質層におけるLTP形成を抑制しているものと考えられた。上丘のGABA作動性ニューロンはそれら以外の入力により活性化される可能性もあるが、この点上丘におけるLTP形成は上丘内GABA作動性ニューロンの働きの微妙なバランスの上に存在しているといえる。

上丘LTPの生理的意義を明らかにするにあたって、in vitro とin vivo での本研究成果は、上丘における視覚系、聴覚系、感覚系の統合としての情報処理及び眼球運動におけるLTPの意義の解析にとどまることなく、複雑な運動や記憶といった高次神経機能におけるLTPの性質とその意義の解明に大きな示唆を与えることになる。

論文審査の結果の要旨

長期増強 (long-term potentiation, LTP) はシナプスの可塑性として記憶の基礎過程の一つと考えられ、海馬で多くの研究がなされているが、論文提出者らは脳幹の上丘においても顕著なLTPの存在することを発見し、上丘切片を用いたin vitro の系でその性質について報告してきた。本論文は、in-vitro 及びin vivo ラット上丘におけるLTPの発現機構について網膜-上丘、脳皮質-

上丘の相互作用について検討し、LTP発現に対する上丘におけるGABA作動性介在ニューロンの役割について明らかにした。

実験はウィスター系ラットを用い、上丘切片を用いた *in vitro* 系とラット全身麻酔後の *in vivo* 系で研究を行なった。*in vitro* 実験では上丘切片を作製後、視神経層を電気刺激し、上丘浅灰白質層よりシナプス後電位を記録した。20分間安定な電位が保たれるのを確認した後、視神経層に50Hz、20秒のテタヌス刺激を加えると15～20分で明瞭なLTPの形成が認められた。次に *in vivo* 研究では、ラットをウレタン麻酔しステレオタック脳固定装置に固定した後、左大脳皮質視覚野の上部を開頭し、タングステン製双極刺激電極を反対側視神経に刺入するとともに別の双極刺激電極を同側大脳皮質視覚野上に固定した。記録電極は左上丘に刺入した。反対側の視神経刺激で上丘浅灰白質層にシナプス電位 (PS) が誘発された。また同側の大脳皮質視覚野は上丘に興奮性の投射をしており、大脳皮質視覚野の刺激でも上丘浅灰白質層にシナプス後電位が誘発された。視神経刺激で誘発されるPSは同側大脳皮質視覚野の条件刺激により20～350 msecにわたる抑制を受けた。この抑制はピクロトキシンの投与 (2.5 mg/kg.i.p.) やGABA合成阻害剤であるメトキシピリドキシン (100 mg/kg.i.v.) で脱抑制されることから、上記の視神経刺激で誘発されるPSに対する同側大脳皮質からの抑制は上丘内のGABA作動性介在ニューロンを介してなされていることが明らかとなった。LTP発現に関して *in vivo* の状態においては視神経に50Hz、20秒のテタヌス刺激を加えてもLTPを発現することは容易ではないが、同側の大脳皮質視覚野を除去するか、ラットにピクロトキシンやメトキシピリドキシンを投与した時には視神経へのテタヌス刺激で顕著なLTPが誘発された。このことによって大脳皮質視覚野は反対側視神経刺激で上丘浅灰白質層に誘発されるLTP発現に対し、上丘内GABA作動性ニューロンを介して抑制的に作用していることが明らかとなった。

上丘は眼球運動を中心として視覚系、聴覚系、感覚系の統合機能をもつが、本研究で明らかにされた同側大脳皮質の出力が上丘内GABA作動性介在ニューロンを介して視神経からのLTP形成を修飾するという結果は、従来行なわれなかった上丘LTPの生理的意義を明らかにする上に重要な知見を得たものとして価値ある集積であると認める。よって本研究者は博士 (医学) の学位を得る資格があると認める。