Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2025-12-05

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。

〔39〕

氏名・（本籍）	平井宏和（ひらいひろかず）　（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通させる長期増強（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（250～300ｇ）から上丘を取り出し厚さ400～600μｍ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５ＭΩ）を用いてシナプス後電位（集合電位、ＰＳ）をオッシロスコープにて記録した。刺激は最大ＰＳの１／２の振巾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（250～300ｇ）をウレタン麻酔（1.2～1.2ｇ／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10MΩ）を用いステレオタキシックに左上丘に刺入した。刺激は上丘で記録されるＰＳ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400μ１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２ＭＫＨＣO_3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ＰＳ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ＰＳ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（ＰＳ）が誘発された。このＰＳは記録電極を浅灰白質層表面から視神経層方向へ約200μｍ垂直に進めると陽性へ反転した。ＰＳが反転する付近ではユニットの放電がＰＳ上に頻繁に記録された。このＰＳはSeftonが報告したC_2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ＰＳ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ＰＳ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野野－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き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）を復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ＰＳ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ＰＳ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、同側の大脳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大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 ラットの上丘におけるＬＴＰの形成が同側大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クリンを加えた場合はＬＴＰ形成が促進される。また、in vivo ビクロトキシンあるいはメトキシビリドキ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。事実この抑制はピクロトキシンあるいはメトキシピリドキシンで消失した。また同側大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大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 pontentiation,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、大脳皮質－

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シ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。