

氏名(本籍) 加 藤 宏 司

学位の種類 医 学 博 士

学位記番号 医 第 7 2 4 号

学位授与年月日 昭和 4 7 年 2 月 2 3 日

学位授与の要件 学位規則第 5 条第 2 項該当

最終学歴 昭和 4 1 年 3 月
東北大学医学部卒業

学位論文題目 Intracellular recordings from the
lateral geniculate nucleus of cats.
(猫外側膝状体ニューロンの細胞内記録)

(主 査)

論文審査委員 教授 中 浜 博 教授 田 崎 京 二

教授 星 猛

論文内容要旨

序

ガラス微小電極を使った細胞内記録は電気生理学の有力な一方法であるが、外側膝状体(LGN)ニューロンの細胞内記録は困難でありquasi-intracellular recordingが多い現状である。しかし現在までにシナプスレベルの興奮、抑制機構の解明の為にいくつかの細胞内記録が試みられて来た。田崎らは1954年初めてネコLGNの細胞内記録を試み、持続の長いシナプス後抑制電位(IPSP)の存在を報告し、1965年Fusterらがラビツトで、1966年鈴木らがネコで、1967年にはMcLlwainらがネコの記録を報告している。本実験の目的の一つは困難とされているLGNニューロンの細胞内記録をとることであり、第2は細胞内記録を用いて特にIPSPを中心としたLGNの機能、ことに両側視神経からの入力、光のオン・オフによる相反性神経支配及び両眼視機能の解明を試みたものである。

方

法

実験は17匹の成ネコを用い、ネブタール深麻酔を施した後、外科的手術を施し、定位脳固定装置にネコをとりつけ行つた。電気刺激(0.1-0.5 msec, 1-50V)は大脳視覚領(visual cortex, VC), 上丘(superior colliculus SC), 及び両側視神経(optic nerve, ON)に双極電極を用いて与えた。光照射刺激としては顔前約20cmのところにglow modulator tube(20-30 cd/m²)を用いて与えた。又実験中ネコは38℃前後に保温され、ミドリン-Pにより散瞳させた。記録は2.0-3.0M, クエン酸カリウムガラス電極(15-25 MΩ)を用い前置増巾器を通し、ブラウン管上及びオーディオモニターで観測し、FMテープに記録した。FMテープの記録はhigh speed A-D converterを介しelectronic computerで再生分析した。実験終了後、脳を取り出し凍結切片標本を作製し、刺激及び記録部位の確認を行つた。脳深部LGNでの細胞内記録を可能にしたのは第一に脳の振動を少なくした事、第二は電極に通電を行つた事であつた。このようにして得られた41ケのニューロンについて、LGNの細胞内記録であり、EPSP(シナプス後興奮電位)又はIPSP(シナプス後抑制電位)であるといういくつかの基準をもうけ分析した結果を以下述べていく。

結

果

(1) 一般的な観測, LGNニューロンのシナプス後電位にはEPSPとIPSP及びスパイク電位の3つがあることを確認した。EPSPによりLGNニューロンは2大別出来た。即ち2~3段階に分かれるEPSPをもつニューロン(37ケ)と大きなall-or-nothing型のEPSPをもつニューロン(4ケ)であつた。EPSPの振巾は3.1-11.5 mVであつた。IPSPは自発的に出現することは少なく、ON, VC, SC及び光照射の刺激でしばしば出現した。これらのIPSPは短く小さいもの(持続8-50 msec, 深さ3-8 mV)と長く大きいもの(50-170 msec, 6-22

mV)にはほぼ大別出来た。IPSPは又連続して出現することもあつた。この場合は自発的に又は光刺激及び大脳皮質視覚領, SC, ONの電気刺激によりよく観察された。特にネンブタールの浅い時に多く観察された。(2) 電気刺激による反応(a) ONの刺激 両側視神経刺激の反応によりLGNニューロンが3つの型に分類出来た。1型は一側のみからEPSPが, 2型は両側からEPSPが, 3型は一側からEPSPが他側からIPSPが最初の反応として誘発されるものである。両側刺激を試みたニューロン12ケのうち, 1型・2型・3型に属するものは, それぞれ, 4ケ・2ケ・6ケであつた。3型の他側刺激によるIPSPの潜時は2.5—6.0 msec(平均3.4 msec)であつた。このことは, LGNニューロンのIPSPはONより直接受けるのではなく入力に変換されて出現していることを示している。(b) VCの刺激 VCの刺激によりA—Bブロックを起こしたスパイク(full spikeの25—60%)が17野の刺激により多くみられ, 又IPSPも多く観察された。IPSPの潜時は1.8—7.0 msecで, 漸増が認められ, しばしば18野の刺激でみられた。(3) 光照射に対する反応。光照射に対する反応には, 4つの種類のIPSPがあつた。オン—反応ニューロンでは光のついた時スパイク発射後に出現するもので(IPSP_{on} of on-response neuron), 他の1つは光の消えた直後に出現するIPSP_{off} of on-response neuronである。又オフ—反応ニューロンでは, 光のついた直後に出現するものと, 光の消えた時スパイク発射後に出現するものであつた(IPSP_{on,off} of off-response neuron)とIPSPは連続して出現し易く, IPSPの中間でバーストスパイクの発射がみられた。オフニューロンではIPSPが明瞭でない場合があつた。

考 察

ON刺激によるEPSPの潜時は1.0—3.0 msec, IPSPの潜時は2.5—6.0 msecであり, LGNニューロンは網膜からの入力を単シナプス性にEPSPとして受ける一方, IPSPは介在ニューロンにより多シナプス性に出現する事が判る。さらに光に対するIPSP_{on} or _{off} of on-or-off responseニューロンがある事より光 on-off 入力の相反性神経支配即ち on-responseニューロンには off-response ONが, off-responseニューロンには on-response ONが抑制介在ニューロンを介して結合している事が推定出来る。そして潜時よりLGN内で起り得ると思われる。LGNレベルでの両眼視には2型及び3型のニューロン(67%)がこれに与かる事が推定され, 軸索の側枝が抑制ニューロンを介してLGN核内で層間に結合している可能性が推定出来た。さらにCreutzfeldらのEPSPの伝達効率のすぐれているという点を確認し, BishopらのONとLGNニューロンの1対1対応関係をもつニューロンの存在が判つた。

結 論

ネンブタール麻酔下のネコ外側膝状体ニューロン41ケの細胞内記録をガラス電極を用いて行ない網膜からの入力 on, off によるLGNレベルでの相反性神経支配網及びLGNの層間に於る軸索側枝を介しての両眼視機能に関する神経支配網の存在を推定した。これらの神経支配網にはLGN核内の抑制性介在ニューロンが重要な働きをもっている点が判つた。

審 査 結 果 の 要 旨

外側膝状体 (lateral geniculate nucleus, LGN) の細胞内記録は、1954年田崎らが始めて試みて後、いくつかの報告がある。しかし一般的に言つてLGNからの細胞内記録は大変困難な現状である。本実験はネンブタール麻酔下の成ネコ17匹のLGNニューロンの細胞内記録を行ない、41ケの記録を得てその分析結果について報告したものである。本論文の特徴は第一に細胞内記録をより易く可能にした点である。第二は抑制性介在ニューロンが関与する2つの回路網(視神経のオン-オフ入力による相反性神経結合及び両眼視に与えるLGNニューロンの層間に於る神経結合)の検証である。第三はLGNニューロンにおけるシナプス興奮及び抑制電位(EPSP及びIPSP)の性質を観察した点である。以下3つの点につきよりくわしく説明する。

脳実質に電極が入った時に電極の抵抗や容量の成分が変化するのを、通電や発振を行なつて、リング中でのものと電極の性質にもどし、細胞内に挿入することを行ない、細胞内記録を可能にした。

第二の点については、眼前に光源をおき光刺激を与え、その反応から、視神経よりの入力のオン-オフが相反性に結合していること、即ちLGNのオン反応ニューロンにはオフ反応視神経入力、又LGNのオフ反応ニューロンにはオン反応視神経入力抑制性介在ニューロンを介して結合しているということを明らかにしている。一方視神経の電気刺激及び大脳視覚野の刺激によるIPSPの出現の潜時から相反性の結合がLGN内の現象であろうと著者は推定している。さらに両側視神経に電気刺激を加えた12ケのLGNニューロンのうち6ケのニューロン(50%)は反対側(nondominant側)の視神経からIPSPの入力を受けていることを確認している。これらのLGNニューロンは両眼視機能に与つてると著者は考え、その神経回路網としてLGNの層間における抑制性介在ニューロンを介する回路網を推定している。

第三の点ではEPSPを二種類に区別し、LGNニューロンの伝達効率の良い事を示している。さらにIPSPについては二種類のIPSPのある事を観察し、LGNで長い時間の抑制のあることを示している。大脳視覚野の刺激では18野よりIPSPを受けているニューロンのある事、IPSPの連続する事(Sequence of IPSPs)を観察している。このIPSPの連続は光刺激・大脳視覚野・上丘・視神経の刺激でよく出現し、IPSPの終りでバーストスパイクの発射のある事をみている。また両側視神経の刺激により出現する初めのEPSP又はIPSPの反応によりLGNのニューロンが3つのタイプに分けられる事も報告している。

本研究の特徴は従来困難であるとされていたネコ外側膝状体の細胞内誘導を行ない、抑制を中心とした外側膝状体の機能について新たな知見を加えた点にある。

よつて、本論文は充分学位授与に値するものと認める。