

| | |
|----------|--|
| 氏名 | おのむねのり 小野 宗 範 |
| 学位(専攻分野) | 博士 (医学) |
| 学位記番号 | 医博第2857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 |
| 研究科・専攻 | 医学研究科脳統御医科学系専攻 |
| 学位論文題目 | GABAergic neurons in Inferior colliculus of the GAD67-GFP knock-in mouse: Electrophysiological and morphological properties. (GAD67-GFP ノックインマウスを用いた下丘 GABA 作動性神経の電気生理学および形態学的特徴に関する研究) |
| 論文調査委員 | (主査) 教授 金子武嗣 教授 伊藤壽一 教授 河野憲二 |

論文内容の要旨

下丘は、下位聴覚伝導路及び、より上位の聴覚中枢から入力を受け、聴覚情報の統合的処理を行う神経核である。下丘は外側毛帯核などから、GABA 作動性の抑制性入力を受ける。この抑制入力は、下丘で行われる統合的情報処理に重要な役割を持つことが知られている。このような GABA 作動性神経の候補の1つとして下丘内に存在し、その投射を下丘内に終わらせる、いわゆる intrinsic な GABA 作動性神経がある。しかし、この GABA 作動性神経に直接、電気生理学的なアプローチすることは困難であった。GABA 作動性神経と非 GABA 作動性神経を生きたスライス標本上で区別する事が、これまで出来なかった為である。本研究では、この困難を打開するために GAD67-GFP ノックインマウスを導入した。この遺伝子改変マウスでは、GABA 作動性神経が特異的に GFP でラベルされてある。従って、生きたスライス標本においても GABA 作動性神経か否かの判別ができる。実験は、GAD67-GFP ノックインマウスの中脳スライスを用い、ラベルされた下丘 GABA 作動性神経の発火特性および形態学的特徴をホールセルクランプ法と細胞内染色法を組み合わせた手法を用いて行った。その結果、下丘の GABA 作動性神経は、発火特性から 1) 静止膜電位からの脱分極パルス (200 ms) に対し持続的な発火を示すもの (tonic 型) と 2) 脱分極パルスに対し注入直後にのみ発火するもの (transient 型) の 2 種に大きく区別できた。Tonic 型には、パルス注入前の膜電位を過分極側へ変化させることで、発火様式を変化させるもの (BP 型) とそうでないもの (RS 型) の 2 種が見られた。全ての tonic 型は spike のあとに後過分極電位 (AHP) を伴う。この AHP は 0.1 mM の CdCl₂ もしくは、2mM の apamin によって抑制された。このことから tonic 型の AHP には Ca²⁺ 依存性 K⁺ 電流 (I_{AHP}) の関与が考えられた。細胞内染色の結果、BP 型、RS 型いずれの神経も、下丘内に広く分布し、様々な大きさの細胞体、樹状突起をもつ不均一な集団であることが分かった。Transient 型は、AHP を持つもの (T_{h-} 型) と、持たないもの (T_{h+} 型) の 2 種類に区別された。T_{h-} 型は、下丘で最小の集団であった。T_{h+} 型は spike の後に AHP の代わりに後脱分極電位 (hump) を持つという特徴を示した。Hump は、パルス注入前の膜電位を過分極側にすることで、より顕著になった。また、NiCl₂ (0.1-0.2 mM) によって抑制された。このことは、hump が T 型の Ca²⁺ 電流の活性化によって生ずる事を示唆している。T_{h+} 型は、他の GABA 作動性神経と異なり、下丘背外側部に限局し、形態学的には小さな樹状突起を持つ均一な細胞集団であった。ほぼ全ての type の GABA 作動性神経には、過分極パルス (200ms) に対して緩徐な脱分極側への電位変化 (depolarizing sag) が認められる。この sag は、0.1mM の ZD7288 に感受性であり、I_h の寄与によると考えられた。非 GABA 作動性神経に関しても調べたところ、GABA 作動性神経に比べ、より多様な発火様式をしめした。今後、これらの GABA 作動性神経が構成する神経回路の実態を詳細に解析し、この抑制性神経の聴覚情報処理において果たす役割について明らかにしていきたい。

論文審査の結果の要旨

本論文は、中脳に存在する聴覚系神経核である下丘の GABA 作動性ニューロンの電気生理学および形態学的特徴について

て、GABA 作動性神経が特異的に GFP でラベルされる GAD67-GFP ノックインマウスの脳幹スライスを用いて、ホールセルパッチクランプ法と細胞内染色法によって調べたものである。その結果、下丘の GABA 作動性神経は、発火特性から、静止膜電位からの脱分極パルスに対し持続的な発火を示す持続型と脱分極パルスに対し注入直後にのみ発火する一過型の 2 種に大きく区別された。持続型は、spike のあとに後過分極電位 (AHP) を持つという特徴があり、パルス注入前の膜電位を過分極側へ変化させることで、発火様式を変化させる BP 型と、変化させない RS 型の 2 種に区別された。一過型は、AHP を持つもの (TH₋ 型) と、持たないもの (TH₊ 型) の 2 種類に区別された。細胞内染色の結果、TH₊ 以外のタイプの下丘内 GABA 作動性神経は、下丘内に広く分布し、様々な大きさの細胞体、樹状突起をもつ不均一な集団であることが分かった。TH₊ 型は、下丘背外側部に限局して、小さな樹状突起を持つ、均一な細胞集団を形成していた。非 GABA 作動性神経に関しては、GABA 作動性神経に較べ、より多様な発火様式をもつ集団であった。

以上の研究は、聴覚神経伝導路における局所回路の解明に貢献し、聴覚路の情報処理機構の理解に寄与するところが大きい。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成17年2月14日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。