

氏 名	まる やま あつ こ 丸 山 敦 子
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2919 号
学位授与の日付	平 成 17 年 11 月 24 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	Fluorescent labeling of rat auditory brainstem circuits for synaptic and electrophysiological studies (シナプス及び電気生理学的研究のためのラット聴覚脳幹回路の蛍光標識)
論文調査委員	(主 査) 教 授 河 野 憲 二 教 授 伊 藤 壽 一 教 授 福 山 秀 直

論 文 内 容 の 要 旨

神経系の機能を電気生理学的に調べる際にその入力および出力経路を同定した上で行うことを考え、ラットの聴覚系において逆行性および順行性にニューロンを蛍光物質で可視化し、可視化後のニューロンの電気生理的性質を調べた。逆行性には下丘に蛍光微小ビーズを注入することにより背側蝸牛神経核(DCN)の出力ニューロンである fusiform cell を標識し、その後スライス標本を作成し標識された細胞から whole-cell patch-clamp 法を用いて電気記録を行った。順行性には2つの経路に対して標識を行った。1つは蝸牛に蛍光色素を注入することによる蝸牛神経核に投射している聴神経線維(ANF)の標識、もう1つは腹側蝸牛神経核に注入することによる台形体内側核(MNTB)への投射線維の標識である。前者においては蛍光色素 DiI を使用し、後者においては DiI の他、膜をターゲットとする緑色蛍光蛋白(GFP)を発現する Sindbis virus を用いた標識も行った。標識された ANF の DCN に投射している1本をガラス電極を用いて電気刺激し、その線維が投射していると見られる細胞から whole-cell patch-clamp 法を用いて興奮性シナプス後電流(EPSC)を記録した。EPSC は刺激電極の位置に対する感受性が高く、電極を線維のごく近傍においたときのみ発生が見られた。また EPSC のサイズは刺激強度を変えても概ね一定の値を示した。これらのことより目的とする単線維が適切に刺激されそれにより EPSC が惹起されたことが示唆された。MNTB では主細胞と calyx を形成してシナプスしている標識線維を刺激することにより、主細胞から大きな EPSC が記録された。これらの実験において蛍光標識後に記録された膜の興奮性や EPSC は、過去に報告されている標識なしのそれと同様であり、可視化処理による有意な影響は認められなかった。以上より蛍光標識は神経ネットワークを効果的に可視化し、ニューロンやシナプスの電気生理学的な性質を調べるのに有用な方法であると確信する。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

ラットの聴覚系において逆行性および順行性にニューロンを蛍光物質で可視化することによりその入出力経路の同定を行い、可視化後のニューロンの電気生理的性質を調べた。逆行性には下丘に投射する背側蝸牛神経核の fusiform cell を標識後、標識された細胞に対し whole-cell patch-clamp 法を用いて電気記録を行った。順行性には蝸牛から蝸牛神経核に投射する聴神経線維の標識、腹側蝸牛神経核から台形体内側核への投射線維の標識の2通りを行い、標識された線維の1本を電気刺激することにより興奮性シナプス後電流(EPSC)を記録した。EPSC は刺激電極の位置に対する感受性が高く、そのサイズは刺激強度を変えても概ね一定の値を示したことより、目的とする単線維が適切に刺激され EPSC が惹起されたと示唆された。膜の興奮性や EPSC は、過去に報告されている標識なしのそれと同様であり、蛍光標識による有意な影響は認められなかった。

以上の研究は、蛍光標識法が神経ネットワークを効果的に可視化し、ニューロンやシナプスの電気生理学的な性質を調べる事においても有用な方法であることを明らかにし、神経科学の発展に寄与するところが大い。

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10月24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。