

氏 名 遠 藤 利 朗

学位（専攻分野） 博士(理学)

学 位 記 番 号 総研大甲第474号

学位授与の日付 平成12年3月24日

学位授与の要件 生命科学研究科 生理科学専攻

学位規則第4条第1項該当

学 位 論 文 題 目 Electrophysiological and Morphological Properties of
Neurons in the Superficial Layer of the Rat Superior
Colliculus

論 文 審 査 委 員 主 査 教 授 川 口 泰 雄
教 授 伊 佐 正
教 授 井 本 敬 二
教 授 福 田 淳 (大阪大学)

To elucidate the fundamental properties of morphologically identified neurons composing local circuits of the superficial layer of the superior colliculus (SC), they investigated the electrophysiological properties and morphological characteristics of neurons in the superficial layer of rat SC, focusing on the following three points: 1) membrane properties and ion conductances, 2) distribution of functionally different subtypes of AMPA-type glutamate receptors and 3) pre- and post-synaptic action of GABA_B receptors. They performed whole-cell patch clamp recording and intracellular staining with biocytin and/or lucifer yellow in slice preparations of the rat (16 to 23 days old) SC.

According to the firing responses to depolarizing current pulses, the neurons in the superficial layer (n=262) were classified into six classes: (1) Burst spiking neurons (n=87), (2) Regular spiking neurons (n=131), (3) Late spiking neurons (n=20), (4) Fast spiking neurons (n=9), (5) Neurons with rapid spike inactivation (n=11), (6) Neurons with short spike train (n=4). Majority of recorded neurons were classified either into type (1) or type (2). In response to hyperpolarizing current pulses, time-dependent inward rectification ("voltage sag", n=120) caused by hyperpolarization-activated current (I_h) and time-independent inward rectification (n=66) caused by inward rectifier potassium channels were observed. Based on the somatodendritic morphology, the neurons (n=98) were classified into seven groups following previous descriptions: (a) marginal cells (n=6), (b) narrow field vertical cells (n=15), (c) piriform cells (n=14), (d) horizontal cells (n=18), (e) stellate cells (n=9), (f) wide field multipolar cells (n=8), and (g) wide field vertical cells (n=28). In general, each groups were heterogeneous with respect to electrophysiological properties among which, although burst spiking and regular spiking neurons consisted the majority. However, a notable correlation between was observed: all the type (g) neurons showed marked voltage sag caused by I_h , and voltage clamp analysis revealed that type (g) neurons expressed I_h with faster activation kinetics and larger current density than the other subclasses.

Among morphologically identified subclasses of neurons, AMPA receptors with inwardly rectifying current-voltage (I-V) relationship were found mainly in horizontal cells, while linear or outwardly rectifying AMPA receptors were found in all the seven cell types. The inwardly rectifying AMPA receptors were suppressed by 1 mM spermine, while those with linear or outwardly rectifying I-V relationship were not. The degree of inward rectification was inversely correlated with the reversal potential of current responses of AMPA receptors in Na⁺-free, isotonic high Ca²⁺ (20mM) solution, which is an indicator of Ca²⁺-permeability of the receptors. Thus, Ca²⁺-permeability was higher in inwardly rectifying AMPA receptors. Furthermore, the AMPA-component of excitatory post-synaptic currents which showed inwardly rectifying I-V relationship and markedly suppressed by 1mM spermine was evoked by electrical stimulation. These results indicate that Ca²⁺-permeable AMPA receptors are mainly expressed in horizontal cells and involved in synaptic transmission.

Bath application of baclofen (10–30 μ M) elicited hyperpolarization due to an outward current in neurons including narrow field vertical cells, stellate cells, and wide field vertical cells. The reversal potential of the baclofen-induced current was nearly equal to the equilibrium potential of

potassium calculated from Nernst equation, suggesting that GABA_B receptors activated the potassium conductance. Application of baclofen also suppressed both EPSCs and IPSCs evoked by electrical stimulation of adjacent region of recorded cells. Furthermore, all these effect of baclofen was antagonized by application of specific GABA_B receptor antagonist, CGP55845A (0.1–1 μM). Baclofen had no effect on current responses elicited by bath application of 10μM kainic acid or 5μM muscimol under the presence of 0.5 μM tetrodotoxin, suggesting that suppression of synaptic currents occurred at the presynaptic terminal. All the above results have clarified the presynaptic and postsynaptic function of GABA_B receptors: activation of GABA_B receptors at the postsynaptic membrane cause hyperpolarization and activation of those at presynaptic terminal suppresses the synaptic transmission at both glutamatergic and GABAergic synapses. These effects could be observed in a wide variety of cell types in the superficial layer of the SC.

The findings of this study add fundamental knowledge about the basis of dynamic properties of visual processing in the SC.

論文の審査結果の要旨

哺乳動物の脳のなかで、上丘は視覚情報によって眼球や顔の動きなどを調節する重要な部位である。上丘の神経細胞の性質は、これまで個々の細胞に関して、視覚刺激に対する応答の様式や眼球の運動等との関係が調べられてきたが、その内部の神経回路の動作に関してはほとんどわかっていない。特に、(1)個々の上丘ニューロンが入力をどのように出力に変えるのか、(2)上丘内のシナプスはどのように信号を伝えるのか(3)上丘にあるさまざまな伝達物質は、上丘の入出力をどのように変化させるのか等、局所神経回路の基本的な事柄が明らかにされていない。上丘は規則正しい層構造をなしており、脳表面に近い浅層には、網膜からの視覚の信号を受け取る細胞や浅層の情報を深い層に送る細胞がある一方で、深層のニューロンは、運動を直接制御する役割を持つ脳幹その他の場所にある神経細胞に信号を送っている。従って、各層ごとにニューロンの役割が異なり、各層内のニューロンの性質と局所神経回路を解析する必要がある。

申請者は、網膜からの入力を受ける視覚浅層で、(1)それを構成するニューロンの電気生理学的性質、(2)グルタミン酸作働性のシナプス伝達の特徴、(3)GABAのシナプス伝達に対する作用を、ラットの脳切片標本を用いて調べた上で、それらの性質と、これまでの研究で明らかにされている形態学的なニューロンタイプとの関係を詳細に調べた。その結果、次のようなことが明らかになった。

(1)上丘浅層には、電気生理学的反応性からも形態学的にも、非常に多様なニューロン群が存在した。生理的性質と形態的特徴の間に相関はあまり見られなかったが、形態学的に wide field vertical cell と同定されたニューロンには、静止膜電位やリズム形成に関係する可能性のある h 電流が存在した。

(2)グルタミン酸受容体の AMPA 型には、カルシウムを通すものとほとんど通さないタイプがあるが、形態学的に horizontal cell と同定されたニューロンは、他の形態を示すグループに比べて、カルシウムを通すタイプを多く持っていた。

(3)上丘ニューロンでの B 型の GABA 受容体の働きのとして、カリウムの透過性をあげることによって膜を過分極させるシナプス後性の作用の他に、上丘ニューロンへの興奮性や抑制性入力をシナプス前性に抑性する作用があった。

本研究は、単一ニューロンの形態学的特徴、入出力様式、ニューロン間の情報伝達、神経伝達物質によるシナプス伝達の変化など、上丘浅層での情報処理機能を理解するうえで重要な側面を研究し、今後の上丘の神経回路の解析を進めていく上で有用な知見を提供したものである。従って、申請者の論文は学位論文として十分ふさわしいものであると審査委員会は判断した。

学位論文の内容の説明の後、研究の背景、実験方法や生理学・解剖学に関する知識、得られた知見の意義、今後の研究の方向性などについて質疑応答が行われ、申請者は自分自身の研究内容だけでなく、生理学的・解剖学的方法論も十分理解していると判断された。学位論文は明快な英語で論理的に書かれており、英語で論文を発表する能力も十分あるものと判断された。以上の結果から、申請者は学位を取得する水準に達しているものと審査委員会は判定した。