

博士學位論文審査要旨

2020年1月28日

論文題目: Developmental fine-tuning of excitatory synaptic transmission at input synapses in the rat inferior colliculus

下丘に入力する興奮性シナプス伝達の発達に伴った機能調節

学位申請者: 北川 真子

審査委員:

主査: 脳科学研究科 教授 高森 茂雄

副査: 脳科学研究科 教授 櫻井 芳雄

副査: 脳科学研究科 教授 藤山 文乃

要 旨:

外界からの音の情報は、耳から脳幹に存在する複数の神経核を経て、中脳の下丘で統合される。下丘中心核には、脳幹神経核からの興奮性シナプス入力(LL 経路)と反対側の下丘からの興奮性入力(CoIC 経路)が存在し、それらを介して音情報を統合すると考えられている。脳幹部に位置する中継核に存在するカリックス型シナプスの生理学的な特徴に関する知見が蓄積する一方で、下丘への興奮性シナプス入力の特性、聴覚入力開始前後の発達変化については未解明である。本学位研究では、ラット急性下丘スライス標本にパッチクランプ法を適用し、二つの異なる興奮性入力のシナプス特性と聴覚入力開始後の短期可塑性の変化について明らかにすることを目的として実験を行なった。第一に、聴覚入力開始前(生後9~11日)と聴覚入力開始後(生後15~18日)のスライス標本を作成し、下丘中心核へ投射するLL経路とCoIC経路の軸索を刺激電極で刺激し、興奮性シナプス電流(EPSC)を測定した。興奮性シナプス伝達を媒介するグルタミン酸受容体には、速いシグナル伝達を担うAMPA型受容体と、シナプス可塑性に関わるNMDA型受容体が存在するため、これらに特異的な拮抗阻害薬を用いて両成分を分離した。その結果、両経路におけるAMPA型受容体を介したEPSCには発達段階に伴う変化は見られないが、NMDA型受容体を介したEPSCの減衰時定数は発達に伴い短縮されることがわかった。このことから、下丘神経核の神経細胞におけるNMDA受容体のサブユニット構成は、生後発達に伴って変化する可能性が示唆された。次に、両経路の興奮性シナプス伝達の短期可塑性が生後発達に伴って変化するか否かを調べるために、軸索に5回の連続刺激を与えてシナプス応答を記録した。その結果、聴覚入力開始前のLL経路からの興奮性入力では短期抑圧の傾向が認められ、聴覚入力後には抑圧の程度が減少した。一方、CoIC経路からの興奮性入力では短期抑圧は見られず、聴覚入力開始前後でも変化は見られなかった。これらの結果は、聴覚入力開始前後におけるシナプス特性の変化は、同じ聴覚経路でも神経核の種類や入力繊維の種類によって多様性があることを示している。下丘におけるこれらの発達依存的シナプス特性の変化の生理学的な意義については定かではないが、申請者から左右から入力される音源の位置の特定に関わる音源定位機能に関係している可能性が提唱された。

本学位論文の骨子となる成果は、国際的な生理学専門誌である *European Journal of Neuroscience* 誌に筆頭著者として既に公刊されている。

よって、本論文は、博士(理学)(同志社大学)の学位を授与するにふさわしいものであると認められる。

総合試験結果の要旨

2020年1月28日

論文題目： Developmental fine-tuning of excitatory synaptic transmission at input synapses in the rat inferior colliculus

下丘に入力する興奮性シナプス伝達の発達に伴った機能調節

学位申請者： 北川 真子

審査委員：

主査： 脳科学研究科 教授 高森 茂雄

副査： 脳科学研究科 教授 櫻井 芳雄

副査： 脳科学研究科 教授 藤山 文乃

要 旨：

北川氏は、2015年4月に本学大学院脳科学研究科発達加齢脳専攻一貫制博士課程に入学し、現在在籍中である。本研究科シナプス分子機能部門において急性脳スライスを用いた電気生理学研究を通じて、聴覚系シナプスの生理学に関する研究活動に研鑽した。

2020年1月28日午後1時30分から約1時間半にわたり学位論文に関する公開発表を行い、英語によるプレゼンテーションと質疑応答を行った。プレゼンテーションでは、研究の背景、目的、方法、結果、結論、考察が過不足なく適切に述べられ、質疑応答に関しても申請者の丁寧な説明により十分な理解が得られたと評価できる。先行研究についての知識も豊富で、当該研究領域全般に亘る専門知識も十分であると認められた。

更に、公開発表後に、審査委員により論文内容および関連する脳科学分野の諸問題について、非公開の口頭試問を実施した結果、本論文提出者は研究者として十分な学力と、国際的に活躍するために語学力（英語）を有していることが認められた。

よって、総合試験の結果は合格であると認める。

博士學位論文要旨

論文題目: **Developmental fine-tuning of excitatory synaptic transmission at input synapses in the rat inferior colliculus**
下丘に入力する興奮性シナプス伝達の発達に伴った機能調節

氏 名: 北川 真子

要 旨:

聴覚には、左右の耳に入力する音情報から音源の位置を特定する音源定位という機能がある。この機能のために、各耳に到達した音の特徴情報は、脳幹の複数の神経核で抽出され、さらに中脳の下丘で統合される。また、脳幹の神経核からの入力と下丘間の交連性投射も音源定位に関与する (Orton et al., 2016)。下丘の主領域である下丘中心核の神経細胞の音に対する応答には、これらの経路から入力する興奮性と抑制性のシナプス入力に関与しており (Ono and Oliver, 2014)、その神経細胞が、下位の脳幹神経核の細胞からのシナプス入力 (the lateral lemniscus; LL 経路) と、反対の下丘からシナプス入力 (the commissure of the inferior colliculus; CoIC 経路) を受けることで、音情報を統合すると考えられている。

一方、生後発達期の聴覚神経系では、聴覚入力経験に依存して神経回路が再編される。齧歯類では生後 1 2 日ごろに聴覚入力開始するが、聴覚系脳幹に形成されるシナプスにおいては、伝達特性が聴覚入力開始前後に変化し、高頻度・高精度のシナプス伝達を可能にすることが知られている。その時、シナプス応答の下降相が速くなるとともに、遅い応答を惹起する NMDA 受容体由来のシナプス応答が減少し、速い応答を惹起する AMPA 受容体由来のシナプス応答のみになる。また同時に、連続した刺激入力によって神経細胞の応答が短期的に抑圧・促進する現象である短期シナプス可塑性が、脳幹シナプスにおいては聴覚入力前に連続刺激で短期抑圧を示す。その一方で、聴覚入力後には短期抑圧が減少し、高頻度刺激に対してシナプス後部のシナプス応答が追従することが知られている。このような脳幹シナプスにおける研究に比べて、下丘において聴覚入力前後でシナプス伝達や短期可塑性がどのように変化するかについては、未解明であった。

以上の背景より、本研究では、聴覚神経系で入力の統合を担う下丘におけるシナプス伝達特性の生後発達段階における変化について調べることを目的とした。生後発達段階、特に変化が顕著であることが予想される聴覚入力前後に注目した解析をおこなった。実験方法としては、ラット急性下丘スライス標本を用い、シナプス電流をパッチクランプ法によって計測した。

具体的に、論文の第一章で背景と研究目的を述べた。聴覚伝導路の概要や、下丘へ入力する上行性シナプスについての一般的知見など、聴覚神経系での発達期のシナプス伝達特性の変化について明らかにされていることを述べた。次に、第二章では、実験方法と解析方法を述べた。実験では、下丘を含んだラットの急性脳スライス標本を用いた。聴覚入力開始前 (生後 9-11 日) と聴覚入力開始後 (生後 15-18 日) のラットから脳を摘出し、スライスを作成した。そして下丘中心核の神経細胞にパッチクランプ法を使用し、下丘中心核へ投射する LL または CoIC 経路の軸索を刺激電極で刺激した。さらに下丘中心核の神経細胞を -40mV に膜電位固定して内向きの興奮性シナプス電流 (EPSC) を測定した。また興奮性シナプス伝達を測定するため、抑制性伝達物質受容体の阻害薬 (picROTOXIN, strychnine) を細胞外液に加えた。そして短期シナプス可塑性の測定には 5 回の連続した刺激を与えて記録し、1 回目の応答の振幅を基準にして連続した刺激

に対する応答の振幅値の変化比を求めた。

さらに、論文の第三章と第四章で、以下のような実験結果と考察を述べた。

(1) AMPA 受容体と NMDA 受容体を介したシナプス後細胞の応答の性質

下丘中心核の神経細胞で記録される EPSC は、AMPA 受容体を介した速い電流成分 (AMPA-EPSC) と、遅い成分である NMDA 受容体を介した電流成分 (NMDA-EPSC) で構成されていた。シナプス電流の減衰時定数は、受容体チャネルの非活性化の時間経過を主に反映すると考えられる。シナプス後細胞である下丘神経細胞における興奮性応答の発達段階に伴った変化を明らかにするため、2種類のグルタミン酸受容体を介した応答の構成比と減衰時間を調べたところ、NMDA-EPSC において、両方の経路ともに聴覚入力開始後に減衰時間が短縮していた。一方で、AMPA-EPSC 減衰時間に関して発達段階に伴った有意な変化は見られなかった。さらに、AMPA 受容体と NMDA 受容体の構成成分比においても、発達段階に伴った有意な変化は見られなかった。これらの実験結果は、下丘シナプスでは聴覚入力開始後も NMDA 受容体の少なくとも一部は維持されることを示している。また、減衰時定数の短縮については、受容体の分布や受容体サブユニットの構成が生後発達段階によって変化した可能性が考えられた。

(2) 短期シナプス可塑性の発達に伴う変化

下丘神経細胞の興奮性シナプスの発達段階に伴う短期シナプス可塑性を調べるため、5回の連続刺激を入力線維に与えてシナプス応答を記録した。その結果、聴覚入力開始前の LL 経路からのシナプス伝達には短期抑圧の傾向があり、聴覚入力開始後にはその抑圧の程度が減少した。つまり、LL 経路からのシナプス伝達では、発達段階に応じて短期シナプス可塑性が変化した。一方で、CoIC 経路からのシナプス伝達では、聴覚入力開始前と開始後において、短期シナプス抑圧が見られず、一定の応答が持続するか、あるいはむしろ促進する傾向を示した。つまり、発達段階に伴う短期シナプス可塑性の傾向には有意な変化はなかった。

聴覚入力開始後の下丘神経細胞におけるシナプス伝達については、LL 経路と CoIC 経路の違いで伝達効率が異なるのではなく、むしろ短期可塑性を起こさずに安定して情報を伝える傾向があることがわかった。左右の耳から入力する音情報の一致が最初に検出される脳幹神経核では、それぞれの耳からの入力を受ける異なる経路のシナプス伝達強度のバランスが保たれることで、両耳からの同期的入力の検出が可能になっていることがわかっている (Couchman et al., 2010)。本研究から、下丘においても、異なる経路からのシナプス入力のバランスが保たれることで、音源定位機能が向上すると考えられた。

以上の結果は、発達段階に伴う下丘中心核の興奮性シナプス伝達の変化は、脳幹神経核でのシナプス伝達と共通する部分と、下丘特異的な部分があることが示唆された。また、聴覚入力開始後、より安定したシナプス伝達効率を獲得することは、下丘中心核神経回路が高い信頼性をもって聴覚情報を伝達することに寄与していると考えられた。