G-007

海馬 CA1 におけるデンドライトの入力間相互作用

The interaction of inputs of the dendrite in hippocumpal CA1 area

近藤 将史† 池田 良輔† 福島 康弘† 塚田 稔† 相原 威†
Masashi Kondo Ryosuke Ikeda Yasuhiro Hukushima Minoru Tsukada Takeshi Aihara

†玉川大学工学部 〒194-8160 東京都町田市玉川学園 6-1-1

1. はじめに

近年，前シナプス入力がもたらす EPSP（Excitatoly Post-synaptic plasticity：興奮性シナプス後電位）と後シナプスニューロン発火に伴い樹状突起を逆伝播する BPAP（Back-propagating Action Potential：逆伝播活動電位）のタイミング（時間差 Δt）により，シナプス可塑性の増減が異なる STDP（Spike Timing Dependent Plasticity：スパイクタイミング依存性可塑性）が報告されている[1] [2][3].

また LTP (Long Term Potentiation：長期増強)と LTD (Long Term Depression：長期抑圧)の測定法としてガラス微小電極法が用いられてきたが，近年では光計測法と電位感受性色素などの開発によって，長期増強および長期抑圧の電気的応答変化の空間的多点同時計測が可能となり従来のガラス電極を用いた 1 点のみの記録から飛躍的な進歩を遂げた．これまで本研究室では STDP の特性が PD（Proximal Dendrite：樹状突起細胞体近位部）と DD（Distal Dendrite：樹状突起細胞体遠位部）で異なるということを報告してきた [4][5][6]．一方，嗅内野からの海馬 CA1 の DD への直接投射によりデンドライトに誘起されるスパイクが PD の入力により増幅され細胞体を発火させるとの報告もなされている（Jarsky, 2006 [7]）．本実験において PD と DD で情報処理が異なる可能性があることを踏まえ，それぞれの部位への入力時間構造がいかに記憶情報処理に関係するかに着目し，BPAP が PD から DD 方向へ伝達されることを考慮して，PD への入力が BPAP を媒介として DD の情報処理に与える影響を考えた．そこで我々は，アルベウス（Alveus）と CA3 野からのびるシェファー側枝（shaffer collaterals）に電気刺激を与え，BPAP と PD へのシナプス入力による EPSP とのタイミングが，いかに DD の情報処理，つまりネットワークの構造変化(STDP)に影響を及ぼすか光計測法を用いて計測し検討した．

2．実験方法

体重 100 g 前後の雄の Whister Rat から海馬を摘出して厚さ 400 μm にスライスし，200 μM の電位感受性色素 RH-414 を用いて 1 時間染色した．図 1 に海馬スライスの模式図と刺激位置を示した．その後 PD と DD への刺激が同じシナプスを刺激しないようにスライスにカットを入れ（垂直のライン），染色した海馬スライス
をチェンバーに固定した．電気刺激用電極（Tg 電極）は，BPAP を誘導するためアルベウス（BPAP stim.）の位置に 1 つ，残りの 2 つは PD と DD への入力を行うためシェファー側枝に挿入した．

計測には光計測膜電位画像解析装置（MiCAM ULTIMA）を用い，CA1 野のほぼ全体をカバーする領域を 100×100 pixel（10 mm×10 mm）で記録した．光計測システムは時間解像度が 1ms/frame，10 倍の対物レンズを使用し空間解像度が 1 pixel当たり 10×10 μm^2である．また，信号対雑音比を向上するため本実験では応答の 16 回加算平均を行った．

3 つの電気刺激の相対的タイミングは，軸索を刺激することにより細胞体を発火させる“BPAP Stim.”を基準とし，PD に EPSP を起こす“PD Stim.”は Δt= 5, 20 ms の 2 つのタイミング(刺激時間差)を用いた．DD に EPSP を誘起する“DD Stim.”を 5 ms に固定した．入力刺激は，すべてパルス幅 200 μs の単発刺激で，BPAP 刺激は 300 μA，PD 及び DD 刺激は閾値下となるよう 100 -200 μA の刺激強度を使用した．

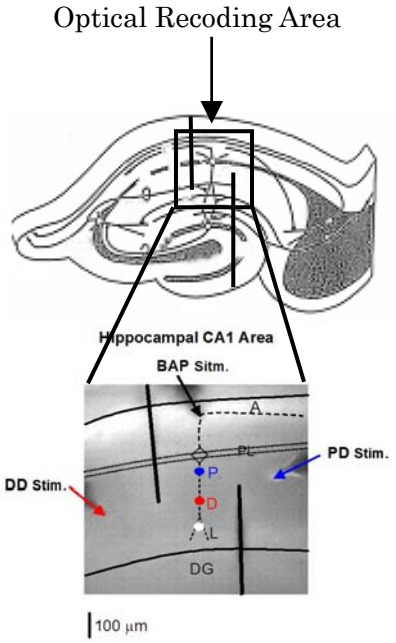

図 1 刺激電極の刺入位置および計測位置
PD：Proximal Dendrite DD：Distal Dendrite
LM：Lacunosum Moleculare A：Alveus
SC：shaffer collaterals DG：Dentate Gyrus
PL：Pyramidal Cell layer

3. 結果

3.1 PD 入力による BPAP の増幅及び抑圧

PD 刺激に対してタイミングを変えて BPAP 刺激を与えた．Δt= 5 ms は LTP 誘起タイミング，Δt= 20 ms は LTD 誘起タイミングである．Δt= 5 ms において PD にシナプス入力がない場合，BPAP はデンドライトを伝播するに従い減衰する．また PD 刺激が PD のみに EPSP を誘起することが確認された．さらに BPAP 刺激と PD 刺激を Δt = 5 ms でペアリングさせたとき，BPAP は PD 刺激により増幅され DD

へ伝播された．DD へ伝播される BPAP の電位は，BPAP 刺激のみを行った場合に比べ増幅され，Δt = 20 ms において同様に BPAP 刺激と PD 刺激をペアリングさせると，PD への入力により BPAP は抑圧され DD へ伝播していく BPAP は減少していることが確認された．

3.2　PD 入力による DD の情報処理への影響

PD 刺激により増幅された BPAP がいかに DD での応答に影響を与えるかについて調べた．Δt = 5 ms において BPAP が PD 刺激により増幅された．さらに BPAP 刺激と DD 刺激をペアリングさせたとき，DD には BPAP と DD 刺激による EPSP の重畳電位が現れることが示された．次に PD へのシナプス入力により BPAP を増幅させて DD 部へ伝播させると，増幅された BPAP と DD のシナプス入力による EPSP との重畳電位は，PD 刺激のない場合と比較し顕著な増加が見られた．

次に Δt = 20ms のとき，同様に PD 刺激と BPAP 刺激をペアリングさせ BPAP を抑圧させて DD 部へ伝播させると，抑圧された BPAP と DD でのシナプス入力による EPSP との電位は，PD 刺激のない場合に比較し，電位が減少するという結果が得られた．この結果は PD へのシナプス入力が DD に抑圧影響を与えていることを示している．

3.3 抑制性細胞の DD への影響

3.2 の PD 刺激（Δt = 20 ms）を与えた場合において BPAP が抑圧されるという結果から，BPAP が抑圧される 1 つの要因として PD 入力において発生する IPSP (Inhibitory Post-Synaptic Potential:抑制性シナプス後電位)の影響が考えられる．そこで抑制性 GABA-A チャネルブロッカーである picrotoxin（200 μM）を用い，投与前後での変化を Δt = 20 ms でペアリングさせ調べた．結果をそれぞれ図 2 に示す．

picrotoxin 投与後，DD へと伝播する BPAP は電位が上がっていることがわかった．このことから Δt = 20 ms において BPAP 刺激と PD 刺激をペアリングさせた際にみられる BPAP の抑圧は，抑制性細胞による IPSP の影響が大きいことが示された．

4. 考察

結果から，BPAP は PD への入力のタイミングに依存して増幅/減衰され，DD に伝播された．そして PD への入力のタイミングにより，DD で可塑的変化がみられた．具体的には，PD において BPAP とシナプス入力が LTP 誘起のタイミング(Δt=5ms)であれば DD へ伝播される BPAP の電位は増加し，それにともない DD での BPAP とシナプス入力による EPSP との重畳電位も増加し LTP を促進させる方向に働き，PD において BPAP が PD 刺激よりも遅れた LTD 誘起タイミング(Δt=20ms)となる場合，BPAP は減衰して DD においては LTP を抑制あるいは打ち消すゲーティング作用があることが結果より示唆された．これを確認するため picrotoxin を投与して実験を行った．結果から投与前に起こった BPAP の抑圧が投与後に消え、電位増加が確認できた．このことから PD において BPAP と PD 刺激が LTD 誘起タイミングとなる場合の BPAP の抑圧は，内在抑制性ニューロン発火にともなう IPSP によることが分かった．

本実験結果は，Distal デンドライトにおける情報処理（可塑性）に対する Proximal デンドライト入力の因果性の存在を示唆し，これら 2 入力間の相互作用による STDP は新しい学習則の基盤となりうると考えられる．

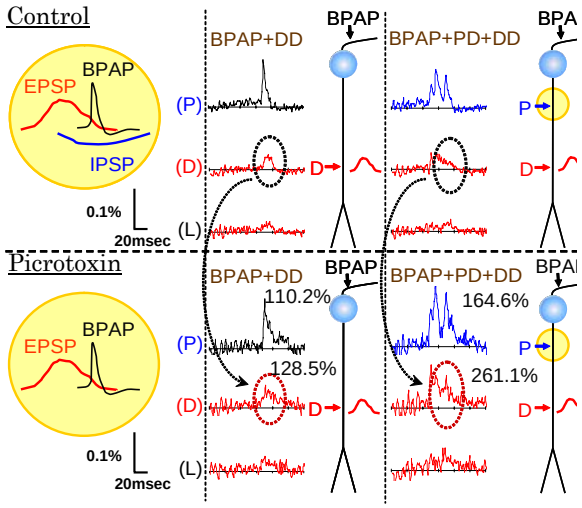

図 2 抑制性細胞の DD への影響

抑制性 GABA-A チャネルブロッカーである Picrotoxin を投与すると，投与前 DD において抑圧されていた EPSP は投与後明らかに増加している．

参　考　文　献

[1] Markram H., et.al.. : Reguration of synaptic efficacy by coincidence of postsynaptic Aps and EPSPs, Science, Vol.275, pp.213-215 (1997)

[2] Magee J. et.al.. : Synaptically controlled associative signal for hebbian plasticity in hippocampal neurons, Science, Vol.275, pp.209-213 (1997)

[3] Bi G. et.al.. : Synaptic modifications in cultured hippocampal neurons : dependence on spike timing, synaptic strength, and postsynaptic type, The Journal of Neuroscience, Vol.18, pp.10464-10472 (1998)

[4] Aihara T. et.al.. : Spatiotemporal visualization of long-term potentiation and depression in the hippocampal CA1 area, Hippocampus, Vol.15, pp.68-78 (2005)

[5] 相原　威　他：スパイクタイミング依存性可塑性に関する NEURON シミュレータの応用　日本神経回路学会誌 vol.12, No.2(2005)

[6] Tukada M. et al.. : Spatial analysis of spike-timing-dependent LTP and LTD in the CA1 area of hippocampal slices using optical imaging. Hippocampus, Vol.15(1), pp.104-109 (2005)

[7] Jarsky T. et al.. : Conditional dendritic spike propagation following distal synaptic activation of hippocampal CA1 pyramidalneurons,NatureNeuroscience,Vol.8,pp.1667-1676(2005)