

# My Thesis (私の学位論文)

ヘルスバイオサイエンス研究部口腔分子生理学分野教授 吉村 弘

*Hiroshi Yoshimura, Nobuo Kato*

## Attenuation of $Mg^{2+}$ -block of synaptic N-methyl-D-aspartate receptors in the visual cortex of rats raised under optic nerve blockade

[視神経遮断下にて飼育されたラットの大脳皮質視覚野における NMDA 受容体  $Mg^{2+}$  ブロックの弱化]

**Brain Research 733: 108-112, 1996** [本文へのリンク](#)

(関連論文) *Proc.Natl.Acad.Sci.USA. 90: 7114-7118, 1993* [本文へのリンク](#)

九州大学歯学部を卒業後、京都大学医学部口腔外科に入局し、卒後研修を受けた。卒後いきなり厳しいカンファレンスを経験し、多くの症例を受け持ち、非常に充実した研修期間であった。もともと学生時代より生理学に興味があったからなのか、感覚認知から運動の遂行に至る過程が見事に制御されていることを、臨床経験を通じてあらためて実感し、その制御に関わる脳への興味が抑えられなくなった。そこで、Go-no Go ポテンシャルや大脳-小脳連関で著明な仕事をされていた京都大学大学院脳統御医科学系認知行動脳科学講座・佐々木和夫教授（京都大学名誉教授、元岡崎国立共同研究機構機構長）をたずね、認識 (Cognition) とはなにか、人はどのような脳内メカニズムを用いて物事を認識しているのか、について研究したいとの希望を述べたところ、大学院での研究を勧められ、1992年に京都大学大学院に入学した。当時、佐々木先生は岡崎の生理学研究所の教授も併任しており、我が国初の脳磁場計測装置 (MEG) の運転を開始したところであった。生理学者として生きていくためには、基礎的神経生理学も経験する必要があるとのことから、週の前半は京都大学で加藤伸郎助手（現金沢医科大学医学部教授）のもとで、脳スライスからの細胞内電位記録を、週の後半は岡崎の生理学研究所で脳磁場計測を学ぶという生活が始まった。生理学研究所では最先端技術を用いて開発された実験装置を人に適用して、事象関連電位 (P300、CNV) などの計測に携わった。一方、京都大学では、加藤先生の行っていたシナプス可塑性の研究指導を受けた。当時、海馬や大脳皮質における NMDA 受容体に  $Mg^{2+}$  ブロックという性質のあることが発見され、注目されていた。その頃、加藤研では大脳皮質視覚野における NMDA 受容体  $Mg^{2+}$  ブロックの電気生理学的機能が生後発達により変化することを追いかけていて、その実験を通して細胞内電位記録法を取得した。その結果は共著者として [Proc.Natl.Acad.Sci.USA \(Vol. 90, pp. 7114-7118, 1993\)](#) に掲載することが出来た。その後、シナプス可塑性の重要な性質である経験依存性 (ヘブのシナプス) に NMDA 受容体の  $Mg^{2+}$  ブロックが関与することの証明を目的として、『視覚入力遮断下で成長すると、視覚野 NMDA 受容体  $Mg^{2+}$  ブロックの生後発達も遅延するのではないか』という仮説が学位論文のテーマとして与えられた。このテーマ研究を遂行するために、教室内にあったいろいろな装置をかき集めて、空き部屋を使わせてもらって、ゼロから実験室・実験システムを立ち上げたが、今から思うと、独り立ちするために必要な経験であり、このような自由な環境が与えられたことに感謝している。実際に記録が取れるようになるまで、約半年を要したが、この立ち上げには自らの創意工夫が反映されるので、システムが少しずつ出来上がっていくプロセスを楽しむことが出来た。フライス盤を用いて金属を削ったり、アクリル板を加工して記録用チェンバーを作ったり、まさに工作の時間であった。微小ガラス電極で拾う微小電位を増幅する増幅器、それを確認するためのオシロスコープ、アナログデータをパソコンに取り込むためのインターフェースなどの装置の特性や接続方法を勉強した。電気生理学は、ある程度の物理・化学の知識を必要とする。これらの装置を使いこなすためには電磁気学の知識が必要で、これを再学習した。また、大学受験で使った化学の参考書に記載してある有機、無機の反応式、中和滴定法などが実践で役立つことは驚きであった。顕微鏡の

ステージに記録用チャンバーをセットして、人工細胞外液で還流し、還流液中に厚さ 350  $\mu\text{m}$  のスライスを浸すことで、神経細胞、局所回路を生かすことができる。そのスライス内にある一つの神経細胞に微小ガラス電極を突き刺すわけであるが、これは実体として見ることはできず、オシロスコープを頼りに、膜電位をモニターしながら電極を進めて、膜電位の急激な低下を指標として細胞内への電極先端の刺入を確認した。釣り糸の感覚を指で確かめながら海の中にいる魚を釣っているような感覚であった。この細胞内電位記録は非常にデリケートな方法で、わずかな振動で電極先端は細胞外に出てしまうし、先端抵抗が変わると波形が乱れるし、そもそも先端形状が悪いと細胞膜をうまく突き破ることができない。先端の形を直接見ることはできないので、室温、湿度、天気などを記録して、電極作製装置のパラメーターを操作しながら毎回ベストの条件を模索していた。単にデータを取得するだけなのに、知識と直感の両方を必要とするところに、この種の実験の難しさと楽しさを感じた。視覚入力遮断モデルについては、生後 14 日齢から 3 日おきに両側眼球にテトロドトキシン (TTX) を注入して作製したが、このとき視神経を変性させないようにハミルトンシリンジの針の先端を注意深く磨きながらおこなった。その貴重なモデルラットから計測するため、スライス作製に失敗しないように特に気を使った。コントロールでは、成長に伴い NMDA 受容体電位の明確な膜電位依存性が出現するのに対して、視覚遮断モデルでは NMDA 受容体電位の膜電位依存性が乱れる結果となり (下図)、この結果が得られた時、表現できないほどの喜びであった。仮説が正しかった!! 経験依存性は、受容体レベルにも及んでいる!! このことは、今でこそ NMDA 受容体のサブユニット NR2B から NR2A へ置換が遅れるということで説明がつくが、当時としては、電気生理学的に NMDA 受容体機能の経験依存的变化を示した貴重な報告となった。

論文作成の段階では、文章を書き始める前に、まず図を完成するところから始めた。現在のような便利な解析や図作成ソフトはなく、MS-DOS で動く IBM 系のパソコンで波形の読み出し、グラフ作成などをおこなった。文章については、いきなり英語で書き始めることはできなかったので、まず日本語で書いてみた。しかし、あれもこれもと内容を盛り込もうとして、焦点がはっきりせず、何度も書き直した。これを英語に直すところで、また時間を費やした。なんとか論文を完成させ、Brain Research に投稿したが、レフリーから、TTX による視覚入力遮断方法が適切であることを示せというコメントが戻ってきて、光刺激による視覚誘発電位記録を追加し、TTX 注入が 3 日間有効である結果を示した。この追加実験の後、無事受理され、学位論文申請の運びとなった。学位審査の主査は中西重忠教授 (京都大学名誉教授、現大阪バイオサイエンス所長)、副査は川口三郎教授 (京都大学名誉教授)、本田孔士教授 (京都大学名誉教授)、金子武嗣助教授 (現京都大学教授) と、そうそうたるメンバーであった。審査会での発表は緊張したが、無事質疑応答を乗り切ることができた。学位記授与式では、井村裕夫総長 (京都大学名誉教授、現先端医療財団理事長、現科学技術振興機構顧問) より学位記を手渡していただき、数年に及ぶ苦勞が報われた瞬間であった。

『認識の脳内メカニズム』については佐々木先生にその思いをぶつけてから 2 3 年が経過したが、未だ答えは見つかっていない。幸運であるのは、今でも神経オシレーションと NMDA 受容体に関わる論文を出し続けることが出来ていることであろう。佐々木研究室で「運・根・鈍」を教わった。成功するには、運のよさと根気とねばり強さの三つが必要だという意味であるが、いつかは「神経オシレーション」と「認識」を結びつけたいと思っている。

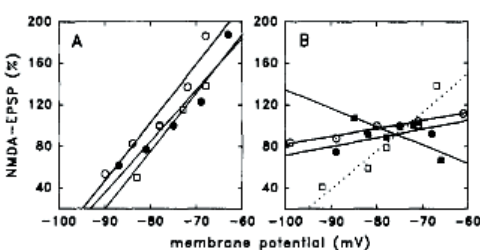


図 NMDA 受容体電位の膜電位依存性は視覚入力遮断により影響を受ける。  
A: コントロールラット  
B: 視覚入力遮断ラット