

Title	脳切片を用いた赤核細胞の薬理的及び電気生理学的研究
Author(s)	窪田, 道典
Citation	大阪大学, 1984, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/34707">https://hdl.handle.net/11094/34707</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a>〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

## 【3】

氏名・（本籍）	くぼ 窪	た 田	みち 道	のり 典
学位の種類	工	学	博	士
学位記番号	第	6593	号	
学位授与の日付	昭和59年9月11日			
学位授与の要件	基礎工学研究科 物理系専攻 学位規則第5条第1項該当			
学位論文題目	脳切片を用いた赤核細胞の薬理学的及び電気生理学的研究 (主査)			
論文審査委員	教授 塚原 仲晃 (副査) 教授 葛西 道生 教授 有働 正夫			

## 論文の内容の要旨

赤核細胞は、これ迄脳の可塑性のモデル系として用いられてきたが、その基礎となる神経伝達物質及びイオンコンダクタンスに関してはあまり解明されていなかった。本論文の目的は、このような研究に大きな利点をもつ脳切片の方法を用いて、赤核細胞に対する神経伝達物質及び赤核細胞に存在するイオンコンダクタンスを明らかにすることである。

本論文は4章から成る。第1章では、赤核細胞に対するアミノ酸の効果が述べられる。赤核細胞より細胞内記録を行うと、局所的刺激によって興奮性後シナプス電位及び抑制性後シナプス電位が記録された。これらの電位は生体内で記録される電位と同様なものであり、赤核の切片は十分に有用であることが示された。L-グルタミン酸あるいはL-アスパラギン酸を灌流液に加えると、赤核細胞の膜電位は脱分極し、入力抵抗は減少した。一方、ガンマアミノ酪酸(GABA)あるいはグリシンを与えると、膜電位は過分極し、入力抵抗は減少した。これに加えてGABAは過分極—脱分極の2相性の作用も示した。これらの作用は、シナプス伝達を抑制する条件下(低Ca<sup>2+</sup>、高Mg<sup>2+</sup>濃度下)で生じたので、赤核細胞に対する直接の作用であると考えられる。

第2章では、赤核の切片からの内因性GABAの放出が述べられる。高カリウム濃度刺激を与えると、赤核から内因性GABAの放出が生じた。この放出は低Ca<sup>2+</sup> 高Mg<sup>2+</sup>濃度下では抑制された。また、ベラトリン刺激によってもGABAの放出が生じた。この放出はテトロドトキシン(TTX)によって抑制された。従って、他の満たされた規準と考え合わせると、赤核においてGABAが抑制性神経伝達物質であることがほとんど確定した。

第3章では、赤核細胞に対するセロトニン、アセチルコリン及びノルアドレナリンの効果が述べられ

る。これらの物質を与えると、赤核細胞の膜電位は過分極し、入力抵抗は減少した。これらの効果は、低 $\text{Ca}^{2+}$ 、高 $\text{Mg}^{2+}$ 濃度下でも同様であった。従って、セロトニン、アセチルコリン及びノルアドレナリンは、赤核細胞に対して直接の作用をもつものと考えられる。

第4章では、赤核細胞の電気的活動に関与するイオンコンダクタンスについて述べられる。赤核細胞を脱分極させると、速い活動電位が発生し、これはTTXによって消失した。テトラエチルアンモニウム (TEA) を外液に加え脱分極させると、TTXによって消失しないゆっくりとした活動電位が生じ、これは $\text{Co}^{2+}$ あるいは $\text{Mn}^{2+}$ によって消失した。後過分極電位のうち速い成分はTEAによって消失し、遅い成分は $\text{Co}^{2+}$ あるいは $\text{Mn}^{2+}$ によって消失した、どちらの成分も外液の $\text{K}^+$ 濃度に依存した。膜電位を過分極させると、時間依存性の内向き整流が生じた。これは $\text{Cs}^+$ によって抑制されたが、 $\text{Ba}^{2+}$ 、TTX、TEAあるいは $\text{Co}^{2+}$ によっては抑制されなかった。以上の結果から、赤核細胞には膜電位依存性 $\text{Na}^+$ コンダクタンス、膜電位依存性 $\text{Ca}^{2+}$ コンダクタンス、膜電位依存性 $\text{K}^+$ コンダクタンス、 $\text{Ca}^+$ によって活性化される $\text{K}^+$ コンダクタンス、及びhコンダクタンスが存在することが結論された。

#### 論文の審査結果の要旨

脳切片法は、脳を500～800ミクロンの薄い切片として切り出し、酵素95%、炭酸ガス25%を含む気体に接してこれらの脳細胞の生存に必要なガスを含む溶液で灌流することにより生体外で脳の一部の生存を可能にした画期的な研究方法で、脳研究のさまざまな問題に応用されている。とくに、脳細胞が接する細胞外液の組成を簡単に変えられること、種々の薬物を作用させることができること、および細胞の放出する物質を灌流液を分析することにより分析できることなどは、大きな利点である。

本方法は、これまで脳切片法が適用されたのが比較的脳表面に位置する海馬皮質、小脳皮質、大脳新皮質であることを考えると、適用するときに、対象とする脳部位によってさまざまな工夫が必要であり、とくに脳の深部に位置する脳幹部では、適用が難しいとされていた。著者はこの方法をこれまで脳の可塑性のモデル系として用いられてきたネコの脳幹部の赤核に適用することに成功し、この部位の神経伝達物質および赤核細胞膜のイオンコンダクタンスの性質を明らかにした。

先ず赤核に入力する興奮性入力の神経伝達物質として、L-グルタミン酸、およびL-アスパラギン酸を灌流液に加え、赤核細胞より細胞内記録およびコンダクタンス測定を行って、興奮性入力の活動を類似した膜の脱分極とコンダクタンスの増加を見出し、これらのアミノ酸が興奮性伝達物質候補であるための重要な知見を得た。一方、ガンマアミノ酪酸 (GABA) あるいはグリシンを加えると膜電位は過分極し、コンダクタンスは上昇する。また高カリウム濃度にして入力線維の脱分極により伝達物質放出をひき起すと、GABAが灌流溶液中に放出されることを灌流液のアミノ酸分析により明らかにした。これはGABAが赤核細胞に入力する抑制入力の神経伝達物質であることを強く示唆する結果である。また著者は、赤核細胞に対するセロトニン、アセチルコリン、ノルアドレナリンの薬理作用をも検討している。

著者は、赤核細胞のイオン・コンダクタンスの解析を行い、5種類のものが存在することを明らかに

した。すなわち、 $\text{Na}^+$ コンダクタンス、 $\text{Ca}^{2+}$ コンダクタンス、膜電位依存性 $\text{K}^+$ コンダクタンス、 $\text{Ca}^{2+}$ によって活性化される $\text{K}^+$ コンダクタンス、およびhコンダクタンスである。この結果は、膜のイオンコンダクタンスの性質に新知見を加えたのみでなく、赤核をモデルとする脳の可塑性の研究に重要な基礎的データを提供したものである。よって本論文を博士論文として価値あるものと認める。