



|              |                                                                                                                                                 |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | 小脳におけるGABAA受容体、グリシン受容体の多様性について                                                                                                                  |
| Author(s)    | 臼田, 俊二                                                                                                                                          |
| Citation     | 大阪大学, 1992, 博士論文                                                                                                                                |
| Version Type |                                                                                                                                                 |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/38296">https://hdl.handle.net/11094/38296</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">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。 |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏 名 <sup>うす</sup>白 <sup>だ</sup>田 <sup>しゅん</sup>俊 <sup>じ</sup>二

博士の専攻分野の名称 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 第 1 0 3 3 5 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 4 年 6 月 8 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第4条第2項該当

学 位 論 文 名 小脳における GABA<sub>A</sub>受容体、グリシン受容体の多様性について

論 文 審 査 委 員 (主査)  
教 授 遠山 正彌

(副査)  
教 授 塩谷弥兵衛 教 授 西村 恒彦

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 【目 的】

$\gamma$ アミノ酪酸 (GABA) は脳内に幅広く分布する抑制性伝達物質でその受容体は GABA<sub>A</sub> 及び GABA<sub>B</sub> 受容体にわかれる。イオンチャネル型受容体 (Cl<sup>-</sup>チャネル) である GABA<sub>A</sub> 受容体は  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\rho$  のサブユニットより成ること, また  $\alpha$  には 1-6 の,  $\beta$  には 1-4 の,  $\gamma$  には 1, 2 のバリエーションが存在することが明らかにされた。小脳においては GABA<sub>A</sub> は豊富に存在し, プルキンエ細胞, 顆粒細胞, 小脳核に入力することが知られているが, それぞれに存在する GABA<sub>A</sub> 受容体がどのようなサブユニット構成を有しているかは明らかではない。本研究では In situ ハイブリダイゼーション (ISH) 法を用いてこの問題の解明を行った。

一方グリシンも GABA と同じく抑制性の伝達物質でグリシン受容体は GABA<sub>A</sub> 受容体と同じくイオンチャネル型 (Cl<sup>-</sup>イオンチャネル) 受容体である。このグリシン受容体は成熟動物では  $\alpha_1$ ,  $\beta$  サブユニットより成る。小脳におけるグリシンの存在は知られているがその標的ニューロンについては不明な点が多い。本研究では ISH 法を用い, 小脳におけるグリシンの標的ニューロン及びそのサブユニット構成を明らかにすることを試みた。

### 【方 法】

実験動物として Wistar 系雄性ラット (体重約 100 g) を用い, ネンブタール麻酔下にて断頭し速やかに脳を取り出し, 新鮮凍結切片を作成した。GABA<sub>A</sub> 受容体については  $\alpha_1$ ,  $\beta_{1-3}$ ,  $\gamma_2$  サブユニット mRNAs, グリシン受容体については  $\alpha_1$ ,  $\beta$  サブユニット mRNA, の局在を ISH 法にて検討した。用いたプローブはすべて 48mer 合成オリゴヌクレオチドプローブで, その特異性は DNA サーチ及び競合・阻害実験で確認した。ISH 法を施行後チオニンにて対照染色を行った。

### 【成 績】

成績は以下のものであった。

(1) GABA<sub>A</sub>受容体各サブユニットmRNAsの分布

|            | プルキンエ細胞 | 顆粒細胞 | 小 脳 核 |
|------------|---------|------|-------|
| $\alpha_1$ | ++      | —    | ++    |
| $\beta_1$  | ++      | +~±  | ++    |
| $\beta_2$  | ++      | ++   | ++    |
| $\beta_3$  | —       | ++   | ++    |
| $\gamma_2$ | ++      | —    | ++    |

(2) グリシン受容体の分布

|            | プルキンエ細胞 | 顆粒細胞 | 小 脳 核 |
|------------|---------|------|-------|
| $\alpha_1$ | —       | —    | ++    |
| $\beta$    | ++      | ±    | ++    |

【総 括】

(1) GABA<sub>A</sub>受容体の多様性について

小脳のプルキンエ細胞・顆粒細胞及び小脳核ニューロン各々にGABA<sub>A</sub>受容体が存在するが、その構成は大きく異なる。プルキンエ細胞には $\alpha_1$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\gamma_2$ サブユニットが存在するが $\beta_3$ サブユニットを欠く。一方顆粒細胞には $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\beta_3$ サブユニットは存在するが $\alpha_1$ ,  $\gamma_2$ を欠く。また小脳核には量的差こそあれ、 $\alpha_1$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\beta_3$ ,  $\gamma_2$ サブユニット全てが存在する。このような事実は同じGABA<sub>A</sub>受容体でも標的ニューロンによってそのサブユニット構成が異なることを示し、GABA作動性システムのGABA<sub>A</sub>受容体を介する多様性の存在を示唆する。

(2) 小脳内のグリシン作動性回路について

小脳核ニューロンはグリシン受容体 $\alpha_1$ ,  $\beta$ サブユニットmRNAsを発現する。この事実は小脳核ニューロンはグリシンの標的ニューロンであることを意味する。小脳核への入力最大のものはプルキンエ細胞であるが、従来プルキンエ細胞はグリシン作動性ではないと考えられているので、小脳核内の介在ニューロンか或いは脳幹より小脳核への入力グリシン作動性と考えられる。

一方プルキンエ細胞も $\beta$ サブユニットを発現し、グリシンの標的ニューロンであることが明らかとなった。このグリシン線維の起始については不明である。

(3) グリシン受容体の多様性について

小脳核ニューロンには $\alpha_1$ ,  $\beta$ のサブユニットが発現する。一方プルキンエ細胞は $\beta$ サブユニットは発現させるが $\alpha_1$ サブユニットは発現していない。従って同じグリシンの入力を受けるにしても顆粒細胞とプルキンエ細胞ではその受容体のサブユニット構成が異なっていることが明らかとなり、GABA同様グリシン作動性システムのグリシン受容体を介する多様性が示された。

論文審査の結果の要旨

GABA, グリシン共抑制系の神経伝達物質として知られ、脳内に広く分布する。小脳においてはGABAは豊富に、グリシンは少量だが認められている。本研究ではラット小脳においてGABA<sub>A</sub>受容体、及びグリシン受容体の分布をISH法を用いて検索した。

その結果GABA<sub>A</sub>については $\alpha_1$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\beta_3$ ,  $\gamma_2$ 各受容体サブユニットの存在が、小脳核、プルキンエ細胞、

顆粒細胞において様々であり、GABA<sub>A</sub>受容体の多様性が証明された。一方グリシンについても  $\alpha_1$ ,  $\beta$  サブユニットの存在が、小脳核、プルキンエ細胞、顆粒細胞において異なり、やはりグリシン受容体の多様性が証明された。

本研究は、GABA<sub>A</sub>, グリシン受容体各サブユニットが小脳にどのように分布しているかを明らかにしたもので、またその結果として GABA<sub>A</sub>, グリシン受容体の多様性を明らかにしたもので、学位論文に値するものと評価する。