



| | |
|--------------|--|
| Title | LOCALIZATION OF A G-PROTEIN COUPLED INWARDLY RECTIFYING K ⁺ CHANNEL, CIR, IN THE RAT BRAIN |
| Author(s) | 飯塚, 正樹 |
| Citation | 大阪大学, 1997, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/40411 |
| 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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。 |

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

| | |
|---------------|---|
| 氏 名 | いい 飯 塚 正 樹 |
| 博士の専攻分野の名称 | 博 士 (医 学) |
| 学 位 記 番 号 | 第 1 2 8 3 6 号 |
| 学 位 授 与 年 月 日 | 平成 9 年 3 月 18 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 | LOCALIZATION OF A G-PROTEIN COUPLED INWARDLY RECTIFYING K ⁺ CHANNEL, CIR, IN THE RAT BRAIN (G蛋白共役型内向き整流性カリウムチャネル, CIR のラット脳内における局在) |
| 論 文 審 査 委 員 | (主査) 教 授 遠山 正彌 (副査) 教 授 米田 悅啓 教 授 倉智 嘉久 |

論 文 内 容 の 要 旨

[目 的]

G蛋白共役型カリウムチャネル(GIRK)は、そのチャネルの開閉を神経伝達物質などの受容体を介して活性化されたG蛋白により直接制御されており、そのイオンチャネルの活性化は細胞の興奮の調節のための機能を担っている事が報告されている。したがってG蛋白共役型カリウムチャネルは、神経伝達系の制御機能に深く関与していると考えられる。これまでに、GIRK ファミリーに属する4つの遺伝子、GIRK1, GIRK2, GIRK3, CIR(GIRK4)が単離され、それらの分子が heteromultimer を形成することが報告されている。すでにGIRK1-3の中枢神経系における発現や分布については、*in situ* hybridization 法や免疫組織化学的手法を用いて明らかにされているが、CIR(GIRK4)については、その発現量が脳において低いことなどから詳細な報告がなされていない。そこで我々は、CIR(GIRK4)の中枢神経系での生理的機能を明らかにするため、ラット脳を材料としてCIRの発現と分布を検討した。

[方法ならびに成績]

CIRのN-末端領域の合成ペプチドをウサギに免疫することにより作成した抗ペプチド抗体は、ラット心臓を用いたウェスタンプロット、及び、ラットCIRを発現させたアフリカツメガエル卵母細胞を用いた免疫沈降において共に48 KDaの蛋白を特異的に認識した。さらに、ラット脳膜分画を用いたウェスタンプロットにおいても48 KDaの单一バンドが認められた事より、本抗体はラット脳においてもCIR蛋白を特異的に認識することが示された。

次に、本抗体を用いた免疫組織化学的染色によりCIR蛋白のラット脳での分布を検討し、さらに、*in situ* hybridization 法を併用することによりCIR mRNAの分布についても比較検討した。CIRの発現は、小脳、嗅球、海馬、大脑皮質、基底核、下位脳幹の各種神経核で認められた。また脳室に見られる脈絡叢においても強い発現が認められた。mRNAと蛋白との神経細胞内での局在を比較すると、mRNAの発現は細胞体に認められたのに対して、蛋白はそれら細胞の神経線維、またはその終末において観察された。特に、小脳や海馬では、CIR蛋白の発現はGABA作動性の介在ニューロンである籠細胞の軸索終末に限局していた。また、プルキンエ細胞では籠細胞軸索とのシナプス形成部位において高密度に発現しているのが観察された。歯状回では、CIR蛋白は分子層に局在しており、苔状繊維では認

められなかった。一方、黒室、下位脳幹の三叉神経核、舌下神経核、動眼神経核、赤核、そして嗅球のツフティド細胞、僧帽細胞では、mRNA の発現は認められたが蛋白の存在は観察できなかった。それに対して、下位脳幹の脚間核では蛋白の存在は認められたが、mRNA の発現は観察されなかった。

CIR は心房筋細胞において GIRK1 とムスカリン性カリウムチャネルを形成している事が知られているが、すでに報告されている GIRK1 の脳内での分布と本実験の結果を比較してみると、小脳のプルキンエ細胞、籠細胞、下位脳幹における下オリーブ核、さらに黒質などでは、その局材は一致していなかった。

[総括]

以上の結果より、CIR は脳においても特定の神経細胞に発現しており、その mRNA と蛋白の局在がそれぞれ細胞体と神経線維に見られることより、CIR は細胞体で合成された後、神経線維、またはその終末へと運ばれそこで機能していると考えられた。また、CIR の発現パターンがすでに報告されている GIRK1 の分布とは異なっていたことより、脳において CIR は、他の GIRK ファミリー (GIRK2, GIRK3) もしくは、未知の分子との間で heteromultimer を形成しているか、または、CIR 単独でイオンチャネルを形成している可能性が示唆された。さらに、本研究では CIR 蛋白が、小脳、海馬において GABA 作動性の介在ニューロン終末に高密度に発現していることを明らかにした。これは、内向き整流性カリウムチャネルが細胞の興奮性を制御するという機能と考え合わせると、CIR がそれらの神経末端からの GABA 分布の調節に関与していることを示唆していた。

論文審査の結果の要旨

G 蛋白共役型内向き整流性カリウムチャネル (GIRK) はその活性化の機構が神経伝達物質受容体の活性化と密に連関していることより、神經伝達系の制御機構に深く関与していると考えられている。これまでに GIRK ファミリーに属する GIRK1, GIRK2, GIRK3 の中枢神経系での発現や分布については報告されているが、CIR (GIRK4) についてはその発現量が低いことなどにより詳細な報告がなされていない。本研究では、CIR の中枢神経系での生理的機能の解明を目的として、*in situ hybridization* 法と免疫組織化学的手法を用い、ラット脳内での CIR の発現と局在を検討している。その結果、CIR は脳において特定の神経細胞に発現しており、また、その蛋白は神経線維に局在していた。特に小脳や海馬においては、GABA 作動性の介在ニューロン終末に高密度に発現しており、CIR がそれら神経末端からの GABA 分泌の調節に関与している可能性を示唆していた。これらの知見は、今後、中枢神経系における GIRK の生理的機能をさらに解明していく上で有用であり、本論文は学位授与に値すると認められる。