

Title	Serotonergic Modulation of the Hyperpolarizing Spike Afterpotential in Rat Jaw-Closing Motoneurons by PKA and PKC
Author(s)	伊藤, さつき
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/42859
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	伊藤 藤 まつ き
博士の専攻分野の名称	博士(歯学)
学位記番号	第 16373 号
学位授与年月日	平成13年3月23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	Serotonergic Modulation of the Hyperpolarizing Spike Afterpotential in Rat Jaw-Closing Motoneurons by PKA and PKC (ラット閉口筋運動ニューロンのスパイク後過分極電位に対するセロトニンの影響)
論文審査委員	(主査) 教授 高田 健治 (副査) 教授 森本 俊文 助教授 米原 典史 助教授 古郷 幹彦

論文内容の要旨

【目的】

三叉神経運動ニューロンは、脊髄の運動ニューロンと同様に豊富なセロトニン入力を受けており、セロトニン入力により静止膜電位の上昇、膜の入力抵抗の増大が起こり、興奮性が上昇することが知られている。これらの変化の他に、セロトニン入力によりスパイク後過分極電位 (AHP) が抑制されニューロンのスパイク発射頻度が上昇することが海馬のニューロン等で報告されているが、運動ニューロンに関しては、変化がないという報告と抑制されるという報告があり、未だ結果の一致を見ていない。そこで本研究はラット脳幹スライス標本にガラス管微小電極法を適用し、セロトニン入力が豊富な閉口筋運動ニューロンから細胞内記録を行い、セロトニンのスパイク後過分極電位に対する影響およびその発現機構を調べた。

【方法】

実験には3から6週齢のSD系雄ラットを用い、クロロプロマジンおよびケタミンで麻酔後断頭し、マイクロサライサーを用いて厚さ400~500 μ mの三叉神経運動核を含む脳幹部前頭断スライス標本を作製した。2時間以上室温にてインキュベートした後、スライス標本をガスインターフェース型記録チャンパーに移し、実体顕微鏡観察下にて閉口筋運動ニューロンが存在する三叉神経運動核背外側部にガラス管微小電極を刺入し、細胞内記録を行った。また一部のニューロンについては、スライス標本作成前に予めRhodamineを咬筋に注入し、細胞内記録を行っている間に記録電極を介してニューロンに biocytin を注入し、記録したニューロンが閉口筋運動ニューロンかどうかを組織学的に同定した。

【結果と考察】

持続2msの脱分極パルス通電により誘発された三叉神経運動ニューロンの活動電位に引き続いて発生するスパイク後過分極電位 (mAHP) についてセロトニンの効果を検討した。セロトニンを50 μ Mの濃度で灌流投与した場合は、脱分極と入力抵抗の増大を認めたが、mAHPの振幅には有意の変化が認められなかった。しかし、セロトニンの濃度を100または200 μ Mに増加させると、脱分極と入力抵抗が増大すると同時に、mAHPの抑制が認められた。一方、細胞外のCa²⁺濃度を2mMから6mMに増加させると、セロトニンによるmAHPの抑制効果は増強され、50 μ Mセロトニン投与時にもmAHPは減少した。

次に、セロトニンによるmAHP抑制効果発現の細胞内機構を調べた。膜透過性のcyclic AMP類似化合物である

8-bromo cyclic AMP を投与すると、mAHP の振幅に有意の減少が認められ、さらにセロトニンの効果は cyclic AMP 分解酵素の阻害薬である Ro20-1724 投与で増強され、A-キナーゼ阻害薬である H89 で拮抗された。

また、細胞外 Ca^{2+} 濃度増加によるセロトニンの mAHP 抑制効果の増強は、C-キナーゼの阻害薬である chelerythrine で拮抗されたため、この増強効果には C-キナーゼの関与が示唆された。一方、C-キナーゼ刺激薬の phorbol 12-myristate 13-acetate 投与でも mAHP の振幅に有意の減少が認められ、この作用は、H89 で拮抗された。従って C-キナーゼによる mAHP の抑制効果は A-キナーゼの活性化を必要とすることが示唆された。

さらに、セロトニンの効果がどの型のセロトニン受容体の活性化によるのかを検討した。5-HT_{2A/2C} および 5-HT₇ 型受容体の阻害薬であるクロザピンの存在下では、セロトニンを投与しても mAHP の振幅に有意の減少は認められなかった。また、5-HT_{1A/7} 受容体刺激薬の 8-OH-DPAT 投与では濃度依存的に mAHP の振幅が有意に減少した。この 8-OH-DPAT による mAHP の抑制効果は 5-HT₁ 型受容体阻害薬であるピンドロール存在下でも認められたが、クロザピンあるいは別の 5-HT_{2A/2C} および 5-HT₇ 型受容体阻害薬であるリタンセリンの存在下では、消失または減弱した。また H89 の存在下では、8-OH-DPAT による mAHP の抑制効果は消失した。以上の結果から、ラット閉口筋運動ニューロンにおいてセロトニンは 5-HT₇ 受容体を介して cyclic AMP 依存性の A-キナーゼを活性化し、mAHP を抑制することが明らかになった。

また、持続 1 秒の細胞内通電により誘発された連続スパイク発射のパターンを調べると、mAHP の減少が認められた時は通電量の変化に対するスパイク発射頻度の変化の度合いが大きくなり、閉口筋運動ニューロンの入出力関係に変化が認められた。従って、セロトニン入力と細胞内 Ca^{2+} 濃度を上昇させる入力が組み合わせれば、シナプス入力に対する閉口筋運動ニューロンの出力パターンが様々に変化することが示唆された。

【結論】

5-HT₇ 型受容体の活性化に続く cyclic AMP 依存性の A-キナーゼの活性化によって、セロトニンは mAHP を濃度依存性に抑制することが明らかとなった。また細胞外 Ca^{2+} 濃度増加によるセロトニンの mAHP 抑制効果の増強は、C-キナーゼ依存性の A-キナーゼの活性化が関係していることが示唆された。従って、セロトニン入力と細胞内 Ca^{2+} 濃度を上昇させるような入力が組み合わせれば、シナプス入力に対する閉口筋運動ニューロンの出力パターンが様々に変化しうると考えられる。

論文審査の結果の要旨

本研究では、ラット脳幹スライス標本にガラス管微小電極法を適用し、セロトニン入力が豊富な閉口筋運動ニューロンから細胞内記録を行い、セロトニンのスパイク後過分極電位 (mAHP) に対する影響およびその発現機構を調べた。その結果セロトニンは 5-HT₇ 型受容体の活性化に続く cyclic AMP 依存性の A-キナーゼの活性化によって、mAHP を濃度依存性に抑制することが明らかとなった。また細胞外 Ca^{2+} 濃度増加により認められる、セロトニンの mAHP 抑制効果の増強は、C-キナーゼ依存性の A-キナーゼの活性化が関係していることが示唆された。従って、セロトニン入力と細胞内 Ca^{2+} 濃度を上昇させるような入力が組み合わせれば、シナプス入力に対する閉口筋運動ニューロンの出力パターンが様々に変化しうることが示唆された。このようにセロトニンによる閉口筋運動ニューロンの活動に対する修飾作用を明らかにしたことは、咀嚼筋活動の調節機構を理解する上で重要な意義をもつものであり、博士 (歯学) の学位授与に値する。