



Title	新生仔ラット三叉神経運動ニューロンのCa2+電流の解析
Author(s)	小川, 哲
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43642
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	小川 哲
博士の専攻分野の名称	博士(歯学)
学位記番号	第16942号
学位授与年月日	平成14年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 歯学研究科歯学臨床系専攻
学位論文名	新生仔ラット三叉神経運動ニューロンのCa ²⁺ 電流の解析
論文審査委員	(主査) 教授 森本 俊文 (副査) 教授 野首 孝嗣 助教授 脇坂 聰 講師 日高 修

論文内容の要旨

【目的】

Ca²⁺チャネルは様々な細胞に存在し、種々の細胞機能に関与していると考えられている。三叉神経運動ニューロンにおいても、低電位活性型(LVA) Ca²⁺チャネルおよび高電位活性型(HVA) Ca²⁺チャネルはスパイク後脱分極電位および後過分極電位の形成に関与し、スパイク発射パターンに影響を及ぼすことが示されている。しかし、三叉神経運動ニューロンにおいて、これらCa²⁺チャネルの特性の詳細は未だ明らかでない。そこで本研究は、スライスパッチクランプ法によって三叉神経運動ニューロンからCa²⁺電流を記録し、Ca²⁺チャネルの基本的特性およびセロトニンによる影響の解析を行った。

【方法】

実験には生後2-5日齢のS.D.系ラットを用いた。ハロセンで麻酔後断頭し、4°Cに冷却した人工脳脊髄液に浸漬し、マイクロスライサーにて三叉神経運動核を含む厚さ250μmの切片を作製した。そして近赤外光を用いた微分干渉顕微鏡観察下で三叉神経運動核の背外側部より三叉神経運動ニューロンを視覚的に同定し、ホールセル記録を行った。

【結果と考察】

実験1: Ca²⁺チャネルの基本的特性

膜電位が-69mV付近から脱分極性パルスによる細胞内通電を行うと、比較的一定の割合でスパイク発射が誘発された。しかし-99mV付近からパルス通電を行うと、1発目の活動電位のすぐ後に2発目が誘発された。そこでTTXにより活動電位の発生を阻害すると、low-threshold spike (LTS)が認められた。この電位は細胞外Ca²⁺をMn²⁺に置換すると消失することから、低電位活性型Ca²⁺電流の関与が示唆された。

次に膜電位固定法を用いてCa²⁺電流の記録を行った。保持電位-90mVから種々の電位の200msコマンドパルスを与えると、閾値が-60mV前後で不活性化の早いLVA Ca²⁺電流と、閾値が-25mV前後で不活性化の遅いHVA Ca²⁺電流が認められた。

実験2: セロトニンのCa²⁺チャネルに対する効果

三叉神経運動ニューロンは豊富なセロトニンの入力を受けており、 Ca^{2+} 電流のセロトニン投与による影響を調べたところ、以下の変化が認められた。1) LVA Ca^{2+} 電流は濃度依存性に増強されたが、HVA Ca^{2+} 電流は逆に抑制された。2) LVA Ca^{2+} 電流活性化の閾値が過分極方向に変化した。3) LVA Ca^{2+} 電流のPeak時点が早くなつた。4) LVA Ca^{2+} 電流波形を $m'h$ モデルによって近似し τ_m と τ_h を求めるとき、いずれも有意に減少した。5) steady stateの不活性化の曲線が約5mV左方に移動した。またセロトニンは電流固定法によって記録されたLTSを増大させた。

次にセロトニンのLVA Ca^{2+} 電流増強効果に対するGタンパクの関与について検討した。セロトニンのLVA Ca^{2+} 電流増強効果は、パッチ電極内液のGTPをGタンパクを介するシグナル伝達を阻害するGDP- β -Sに置換すると有意に減少し、Gタンパクの活性化の著しい延長を引き起こすGTP- γ -Sに置換すると有意に増強した。したがって、セロトニンのLVA Ca^{2+} 電流の増強効果に対するGタンパクの関与が示唆された。さらにGタンパクを介した後の経路を調べるために、C-キナーゼの活性化剤であるPDBuおよびPMAや、A-キナーゼの活性化剤である8-Br-cAMPを灌流投与したが、LVA Ca^{2+} 電流には有意な変化は認められなかった。

セロトニンのLVA Ca^{2+} 電流増強に関与する受容体を調べるために、5-HT_{1A/7}受容体の刺激薬である8-OH-DPAT、5-HT_{1A/1D/7}受容体の刺激薬である5-CTおよび5-HT₂受容体の刺激薬であるDOIを投与したが、LVA Ca^{2+} 電流には有意の変化は認められなかった。また5-HT₄受容体の阻害薬であるGR-113808は、セロトニンによるLVA Ca^{2+} 電流の増強効果を阻害しなかった。

【結論】

以上の結果から以下の結論が得られた。

1. 新生仔ラット三叉神経運動ニューロンにはLVA Ca^{2+} 電流とHVA Ca^{2+} 電流が存在し、LTSの発生にはLVA Ca^{2+} 電流が関与する。
2. セロトニンは、LVA Ca^{2+} 電流の活性化と不活性化のkineticsを変化させてLVA Ca^{2+} 電流を増強するのに対して、HVA Ca^{2+} 電流は逆に抑制する。
3. セロトニンによるLVA Ca^{2+} 電流の増強効果は、Gタンパクを介する細胞内情報伝達系が関与している。
4. セロトニンによるLVA Ca^{2+} 電流の増強効果は、5-HT_{1A/1D/2/4/7}以外の受容体を介して発現している。
5. セロトニンはLVA Ca^{2+} 電流を増強してLTSを増大させ、ニューロンの興奮性を増加させる。

論文審査の結果の要旨

本研究は、新生仔ラットのスライス標本を用い、三叉神経運動ニューロンにおける Ca^{2+} チャネルの基本的特性およびセロトニンによる影響を電気生理学的に検討したものである。その結果、三叉神経運動ニューロンにはLVA Ca^{2+} 電流とHVA Ca^{2+} 電流が存在し、セロトニンはLVA Ca^{2+} 電流を増強することにより、ニューロンの興奮性を増加させる可能性があることが示唆された。

以上の研究結果は、咀嚼運動を司る三叉神経運動ニューロンの膜特性について重要な知見を与えるものであり、博士（歯学）の学位を授与するに値するものと認める。