



Title	An inwardly rectifying K ⁺ channel, Kir4.1, expressed in astrocytes surrounds synapses and blood vessels in brain
Author(s)	東, 佳代子
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43966
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	東 佳代子
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 7 6 8 5 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 15 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科臓器制御医学専攻
学 位 論 文 名	An inwardly rectifying K ⁺ channel, Kir4.1, expressed in astrocytes surrounds synapses and blood vessels in brain. (内向き整流性カリウムチャネルである Kir4.1 は脳内のシナプスや血管周囲を取り巻く星状膠細胞に発現する)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 久 保 武 (副査) 教 授 倉 智 嘉 久 教 授 内 山 安 男

論 文 内 容 の 要 旨

【目 的】脳内では、神経細胞が脱分極してナトリウムイオンが細胞内に流入し、細胞内のカリウムイオン (K⁺) が細胞外間隙に放出される。すると細胞外間隙の一部で K⁺ 濃度が上昇し、この K⁺ は速やかに細胞間から排除されないと、その後の神経の過分極に支障をきたす。内向き整流性カリウムチャネル (Kir) は様々なサブファミリーがあり、多種の細胞に特異的に発現して細胞外 K⁺ 濃度の平衡化 (buffering) に重要な役割を果たしていることが知られている。グリアに発現する Kir はその電気生理学的特性から、細胞間隙の K⁺ 濃度が高い所では K⁺ を取り込み、細胞外 K⁺ 濃度の低い所で K⁺ を放出することが推測されている。Kir の中でも、Kir4.1 は脳内のグリア細胞に発現していることが示されている唯一の Kir である。そこで、我々は Kir4.1 の特異的抗体を用いてラットの脳内における Kir4.1 の分布について調べた。

【方法ならびに成績】Kir4.1 のアミノ酸 C 末端に特異的なポリクローナル抗体を用い、ラット脳の傍正中断連続切片と冠状断切片を DAB 染色法で染色し観察した。Kir4.1 の分布は脳全体に、領域特異的に見られた。例えば、嗅球の糸球体層や、小脳の Bergmann glia、脳室上衣細胞、脳軟膜において特に強い染色が見られた。一方、脳梁や小脳脚のような白質層にはほとんど染色が見られなかった。脳全体の分布を観察すると、神経繊維束に発現が見られないことより、グリア細胞系に Kir4.1 が発現していることが予想された。そこで、どの細胞が Kir4.1 を特異的に発現しているか判断するために、蛍光二次抗体による二重染色法により検討した。嗅球において、Kir4.1 の染色はグリア細胞の中でも特に星状膠細胞 (astrocyte) のマーカー蛋白である GFAP (グリア繊維性酸性蛋白) 陽性細胞の一部に重なって見られた。この知見を踏まえて、免疫電子顕微鏡染色法でラット嗅球を染色し、透過電子顕微鏡で観察したところ、Kir4.1 は astrocyte にのみ発現していることが明らかになり、Kir4.1 の染色は神経や血管内皮細胞、血管周皮細胞には全く見られないことも電子顕微鏡で確認された。Astrocyte のなかでも Kir4.1 陽性のものはおよそ半分で、Kir4.1 を発現している astrocyte が取り巻くシナプスは、主に両方向性シナプス (reciprocal synapse) であり、観察した中で約 7 割から 8 割の reciprocal synapse が Kir4.1 陽性 astrocyte に取り囲まれていた。一方興奮性シナプスでは Kir4.1 陽性 astrocyte に取り組まれている割合は約 3 割にとどまった。Kir4.1 の染色の細胞内局在は、astrocyte の細胞体の中でも特に血管周囲とシナプスを取り巻く細い突起に強く見られ、核周囲の細胞体では発現が弱く、その

他の核内やミトコンドリア内などには全く染色が見られなかった。

【総括】以上の結果より、Kir4.1 はラット脳内において astrocyte にのみ特異的に発現し、血管の周囲や両方向性シナプスの周囲を取り巻く astrocyte の突起に局在していることが明らかになった。これより、Kir4.1 は astrocyte に発現して細胞外 K^+ 濃度に応じて K^+ を細胞内に取り込んだり、細胞外に排出したりして効率よく神経が脱分極、過分極できるようにサポートしている可能性が示唆された。また、興奮性のシナプス周囲には Kir4.1 の発現していない astrocyte が見られたことから、新たに別のカリウムチャネルが興奮性シナプス周囲の astrocyte に発現し、細胞外 K^+ 濃度の調節を行っている可能性もあると考えられた。今後、ラット脳内において、他のカリウムチャネルの局在、機能についても検討する必要があると考えられた。

論文審査の結果の要旨

【目的】脳内では神経細胞が脱分極すると細胞内のカリウムイオン (K^+) が細胞外間隙に放出され、細胞外 K^+ 濃度が上昇する。これは細胞間から排除されないと、その後の神経の過分極に支障をきたす。内向き整流性カリウムチャネル (Kir) は細胞外 K^+ 濃度の平衡化 (buffering) に重要な役割を果たしていることが知られている。その中でも Kir4.1 は脳内グリア細胞に発現していることが示唆されている唯一の Kir である。そこで Kir4.1 の特異的抗体を用いてラットの脳内における Kir4.1 の分布について調べた。

【方法と成績】Kir4.1 の分布は脳全体に領域特異的に見られた。シナプスの豊富な部位に発現が強い一方、自質層には染色が見られなかった。蛍光二次抗体による二重染色法で、嗅球において Kir4.1 の染色は星状膠細胞 (astrocyte) のマーカー蛋白である GFAP (グリア繊維性酸性蛋白) 陽性細胞の一部に重なって見られた。免疫電子顕微鏡染色法で、Kir4.1 は astrocyte にのみ発現していることがわかり、細胞内局在としては特に血管周囲とシナプスを取り巻く細い突起に強く見られた。神経や血管内皮細胞、血管周皮細胞には発現していなかった。Astrocyte のなかで Kir4.1 陽性のものは約半分で、Kir4.1 を発現している astrocyte が取り巻くシナプスは主に両方向性シナプスであり、およそ7割の両方向性シナプスが Kir4.1 陽性 astrocyte に取り囲まれていた。興奮性シナプスでは Kir4.1 陽性 astrocyte に取り組まれている割合は約8割だった。

【総括】Kir4.1 はラット脳内において astrocyte にのみ発現し、血管の周囲や両方向性シナプスの周囲を取り巻く astrocyte の突起に局在していることが明らかになった。Kir4.1 は astrocyte に発現して細胞外 K^+ 濃度に応じて K^+ を細胞内に取り込んだり、細胞外に排出したりして効率よく神経が脱分極、過分極できるようにサポートするのに合理的な部位に局在分布していることを明らかにした。よって、学位に値するものと認める。