The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	三叉神経中脳路核ニューロンにおけるグルタミン酸受容体の特性
Author(s)	松原, 聡
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45574
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

【30】

氏　　名	松原　聡（まつばら　そう）
博士の専攻分野の名称	博　士（歯　学）
学　位　記　番　号	第　１９４１２　号
学位授与年月日	平成 17 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 歯学研究科統合機能口腔科学専攻
学　位　論　文　名	**三叉神経中脳路核ニューロンにおけるグルタミン酸受容体の特性**
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　古郷　幹彦 （副査） 教　授　姜　　英男　　助教授　竹村　元秀　　講　師　長島　　正

論　文　内　容　の　要　旨

【緒言】三叉神経中脳路核ニューロンは、閉口筋筋紡錘および歯根膜を支配する末梢枝からの入力を中枢枝神経終末のシナプスを介して三叉神経運動ニューロンなどに興奮を伝え、咀嚼運動の調節に関与する。閉口筋一次感覚ニューロンである三叉神経中脳路核（以下、MTN ニューロンとする）は脳内に存在するため、その細胞体には神経伝達物質作動性シナプス入力が存在し、この入力により、Ia 群感覚線維に発生するインパルス列の情報を制御している可能性が高い。特に、MTN ニューロンの細胞体に発現しているグルタミン酸受容体は、咀嚼運動制御に重要な役割を果たすと考えられる。そこで、本研究では、MTN ニューロンにおけるグルタミン酸受容体の活性化により誘発される電流応答を解析し、その機能的役割を明らかにすることを目的とした。

【方法】7～14 日齢のマウスならびに Wistar 系ラットを塩酸ケタラールにて麻酔し、上位脳を取り出した。取り出した脳はアガロースゲルで包埋し、マイクロスライサーで MTN を含む厚さ 200 μm の冠状断スライス標本を作製し、記録前に室温の人工脳脊髄液内で 1 時間以上回復培養した。赤外線微分干渉顕微鏡下で MTN ニューロンを視覚的に同定し、ホールセル記録を行った。電圧固定下で、ニューロンに 0.2 mML-グルタミン酸溶液をパフ投与し、電流応答を観察、記録した。また、標準細胞外液で記録後、非 NMDA 型、および、NMDA 型グルタミン酸受容体アンタゴニストを用い、細胞外液へ添加し、さらに電流応答を記録した。

【結果】N-ACSF 灌流下で、MTN ニューロンを静止電位近傍の－70 mV に固定し、L-グルタミン酸 0.2 mM 溶液をパフ投与すると、約 2 秒の時間経過で減衰する内向き電流を観察した。その後、非 NMDA 型、および、NMDA 型グルタミン酸受容体チャネル電流（G1uR-I）拮抗薬を含む ACSF 灌流下で同様の L-グルタミン酸パフ投与を行うと、同様の内向き電流が誘発されたが、その振幅はコントロールの約 50%にとどまった。拮抗薬を十分に洗い流すと、反応はほぼ元のレベルまで回復した。

次に、保持電位を－110 mV から＋90 mV まで変化させてパフ投与を行った。その電流-電圧関係は＋30 mV 付近で反転する特徴的な N 字状を示した。＋30 mV より過分極側では AMPA 受容体Ⅱ型反応に類似した内向き整流性を示すが、＋30 mV より脱分極側ではむしろ同 I 型反応様の外向き整流性を示し、既知反応パターンとは異なっていた。こうした N 型電流-電圧関係の応答パターンが一般的に認められたが、そのうち、過分極側の保持電位において外向き電流成分を持つ 2 相性応答を示すニューロンも多数存在した。L-グルタミン酸パフ投与により、過分極側の保持電位で、こうした外向き電流成分が検出された報告は全くない。

パフ投与直後 44 ms で測定した電流-電圧関係は－70 mV 付近をピークとして、それより過分極側あるいは脱分極側のどちらの保持電位においても、外向き電流が小さくなるベル型を示した。パフ投与後約 105 ms の時点で測定した成分は、ベル型の電流-電圧関係を示した先行成分の影響を受けて、特徴的な N 型の電流-電圧関係になった可能性がある。このことに対し、我々は次のような仮説を立てた。

MTN ニューロンでは、h チャネルが高度に発現している。保持電位を－100 mV にすると h チャネルが活性化され、多量の Na＋イオンの流入が引き起こされ、MTN ニューロン内のマイクロドメインに高度に蓄積する。K＋は平衡電位に近いために移動はほとんど起こらない。このとき、グルタミン酸パフ投与により G1uR が開孔すると、高度に蓄積した Na＋がいくらか外向きに流れる。－70 mV 付近に電位を保持した時は、K＋イオンの平行電位からわずかに離れるために GluR の開孔により K＋による外向き電流が加わる。保持電位が－40 mV になると、h チャネルはほぼ閉じており Na＋イオンの流入はわずかで、マイクロドメイン内の反転電位は保持電位より脱分極側にあることになるため GluR の開孔により Na＋イオンが流出することになると考えられる。

これを証明するために、灌流液中に Cs＋イオンを加えて h チャネルを阻害し、グルタミン酸による電流応答を記録、その後、Cs＋を洗い流して同様に過分極側保持電位で電流応答を記録した。Cs＋イオン灌流時と洗い流した後では、Cs＋消失により電流応答は振幅も経時的にも顕著に減少した。

【考察】N-ACSF 灌流下で観察された電流応答は AMPA 受容体 II 型様ではあったが、＋30 mV 以上の脱分極側ではむしろ同 I 型に近かった。免疫組織化学的手法より MTN ニューロンには GluR2 サブユニットの発現が認められており、このことから I 型の存在が推察される。すなわち、I 型の電流応答に過分極側でのみ外向きの電流応答が重なったためにこのような応答が観察されたと考えることが出来る。本実験より、Cs＋イオンによりグルタミン酸に対する電流応答が増大することから、Cs＋感受性の h チャネルの存在によって I 型の電流-電圧応答が変調され、II 型様の電流-電圧応答を示したことが明らかになった。

論文審査の結果の要旨

本研究は、三叉神経中脳路核（MTN）ニューロンにおけるグルタミン酸受容体の機能的役割を明らかにすることを目的として、スライスパッチクランプ法を用いて行なわれた。その結果、MTN ニューロンでは、静止膜電位付近でグルタミン酸受容体が活性化されても、h-チャネルとの相互作用のため、内向き電流の生成が阻害されることが明らかとなった。このことは、h-チャネル活性化による律動発火時には、律動発火を撹乱しうるグルタミン酸作働性興奮性入力が無効になることを示唆する。

以上の研究結果は、三叉神経中脳路核ニューロンの発火活動におけるグルタミン酸受容体の特異的働きを解明したものであり、博士（歯学）の学位を授与するに値するものと認める。