

Title	Two types of GABAergic miniature inhibitory postsynaptic currents in mouse substantia gelatinosa neurons
Author(s)	高橋, 亜矢子
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/47418
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 ^{たか}高 ^{はし}橋 ^{あや}亜 ^こ矢 子

博士の専攻分野の名称 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 第 20774 号

学 位 授 与 年 月 日 平成 19 年 2 月 19 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第 4 条第 1 項該当

医学系研究科生体統合医学専攻

学 位 論 文 名 Two types of GABAergic miniature inhibitory postsynaptic currents in mouse substantia gelatinosa neurons
(マウス脊髄後角膠様質細胞における 2 種類の GABA 性微小抑制性後シナプス電流)

論 文 審 査 委 員 (主査)

教 授 眞 下 節

(副査)

教 授 狩 野 方 伸 教 授 祖 父 江 憲 治

論 文 内 容 の 要 旨

(目的) SG ニューロンにおける GABA 性微小抑制性後シナプス電流 ; miniature inhibitory postsynaptic current (mIPSC) は侵害受容伝達に重要な役割を果たしており、その変化は鎮痛効果や、病的疼痛をもたらす。

これまでの研究で、SG ニューロンにおける GABA 性 mIPSC に対するオピオイド、ベンゾジアゼピンの効果は、単一であるとされている。しかし、GABA_A 受容体のサブユニットが複数存在すること、また、SG ニューロンが単一細胞構成ではないことから、薬理学的効果も単一ではないことが想像される。

そこで、本研究では、GABA_A 受容体の修飾作用が報告されている麻酔薬の propofol と midazolam が、SG ニューロンにおける GABA 性 mIPSC に与える効果を検討することにより、SG ニューロンの GABA 性抑制性神経伝達の特徴を明らかにすることを目的とした。

(方法) 本実験はすべて大阪大学医学部の Animal Research Committee から許可されたものである。

脊髄スライスの作成・ウレタン麻酔下の 3～6 週齢のマウスより L4-5 領域の 250 μm 横断スライスを作成した。

電気生理学的手法 (パッチクランプ法)

・ artificial cerebrospinal fluid (ACSF) (mM) : 126 mM NaCl, 2.5 KCl, 2 CaCl₂, 2 MgCl₂, 1.25 NaH₂PO₂, 26 NaHCO₃, 10 glucose ; pH 7.35, 310 mOsm (35-36°C) を 5-10 ml/min で持続灌流し、DIC-IR 顕微鏡を用いて直視下に SG ニューロンをパッチクランプした。パッチ電極内液の組成は 110 CsSO₄, 0.5 CaCl₂, 2 MgCl₂, 5 TEA-Cl, 5 EGTA, 5 MgATP, 5 HEPES (mM) である。

・ ホールセルモードにて細胞を 0 mV に電位固定し、テトロドトキシン及びブストリキニンを灌流液に溶解投与し、GABA 性 mIPSC を記録した。

・ 灌流液に propofol, midazolam を溶解、灌流投与し、投与前後の mIPSC の波形の振幅、減衰時間、頻度を解析し、薬剤の mIPSC に対する効果を検討した。

(結果) SG ニューロンにおける GABA 性 mIPSC は麻酔薬 (propofol, midazolam) への感受性と波形の減衰時間

から2種類に分類された。Propofol、midazolamにより波形の減衰時間が有意に延長される細胞 (14.2 ± 0.7 ms ; control 対 19.6 ± 1.1 ms ; propofol、 15.4 ± 2.1 ms ; contro 対 23.2 ± 3.5 ms ; midazolam) と変化しない細胞 (7.4 ± 0.8 ms ; control 対 8.6 ± 1.4 ms ; propofol、 10.2 ± 0.8 ms ; contro 対 11.5 ± 1.7 ms ; midazolam) が存在した。感受性の違う細胞の減衰時間を比較すると、薬剤投与により減衰時間が延長したものは投与前の減衰時間が遅く (mIPSC_{SLOW})、薬剤に感受性の無いものは減衰時間が速かった (mIPSC_{FAST})。振幅、頻度はともに変化しなかった。GABA 誘発電流に対する麻酔薬の効果も mIPSC と同様に、mIPSC_{SLOW} ニューロンでは propofol は GABA 誘発電流の振幅を有意に増加させたが、mIPSC_{FAST} ニューロンでは変化しなかった。

ルシファーイエローによる染色では、2つの mIPSC を示す SG 細胞間の形態学的な差はなかった。

減衰時間の異なる mIPSC の rise time には有意差がなかった。

Non-stationary noise 解析では、電流のピーク時に開いているチャンネルの個数と、一つのチャンネルを流れる電流は、ともに mIPSC_{SLOW} と mIPSC_{FAST} との間に有意差が見られた。これらの結果から、mIPSC_{SLOW} と mIPSC_{FAST} の GABA_A 受容体は異なる特性を持つことが示唆された。SG 領域の組織を用いた RT-PCR の結果より、その存在により、propofol やベンゾジアゼピンへの感受性がなくなるという報告がある ϵ サブユニットの存在が確認された。

(総括) SG ニューロンの GABA 性 mIPSC に対する propofol、midazolam の薬理学的作用を調べた。SG ニューロンの GABA 性 mIPSC は、その減衰時間と麻酔薬への感受性の違いから2種類存在することが明らかになった。mIPSC_{SLOW} は、propofol、midazolam によりその減衰時間が延長された。一方、mIPSC_{FAST} は、propofol、midazolam により変化しなかった。麻酔薬への感受性と RT-PCR の結果を合わせると、 ϵ サブユニットを含む GABA_A 受容体が mIPSC_{FAST} に寄与していることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究では、脊髄後角膠様質 (SG) 細胞の GABA 性微小抑制性後シナプス電流 (mIPSC) に対する麻酔薬プロポフォール、ミダゾラムの薬理学的作用を、マウス脊髄スライスを用い、パッチクランプ法を用いて電気生理学的に検討した。

SG 細胞は mIPSC の減衰時間がプロポフォールにより延長するものとししないもの2群に分けられた。プロポフォールに感受性のない mIPSC の減衰時間は、感受性あるものと比して有意に速かった。2群の間で振幅、頻度、立ち上がり時間には有意差は無かった。mIPSC の減衰時間はミダゾラムにも感受性のある細胞と無い細胞に分類された。mIPSC の non-stationary noise 解析の結果から、2つの mIPSC のチャンネルコンダクタンスと数が異なることが示された。ルシファーイエローによる染色では、2つの mIPSC を示す SG 細胞間の形態学的な差はなかった。これらの結果より、SG 細胞の GABA 性 mIPSC が2種類あることを明らかにした本研究は、学位に値するものと認める。