

Title	呼吸ペースメーカーニューロンの細胞特性
Author(s)	横田, 祐介
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/47592">https://hdl.handle.net/11094/47592</a>
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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</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	横 田 祐 介
博士の専攻分野の名称	博士(歯学)
学位記番号	第 21049 号
学位授与年月日	平成 19 年 3 月 23 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	呼吸ペースメーカーニューロンの細胞特性
論文審査委員	(主査) 教授 古郷 幹彦 (副査) 教授 吉田 篤 助教授 今里 聡 講師 豊田 博紀

#### 論文内容の要旨

【緒言】 呼吸のリズム形成は、延髄内に存在する呼吸中枢により調節されている。また、橋を含めた脳幹内の神経ネットワーク機構により、呼吸のパターンが調節されている。なかでも延髄腹側の pre-Bötzinger Complex (pBC) 領域に分布する呼吸ペースメーカーニューロンならびに呼吸情報伝達ニューロンが、呼吸運動調節に重要な役割を担っているものと考えられる。呼吸ペースメーカーニューロンの細胞特性については、活動電位発生閾値付近でのバースト特性に関する研究は多いが、ニューロンを脱分極させた際の連続発火特性については、ほとんど知られていない。そこで、本研究では呼吸ペースメーカーニューロンに着目し、電気刺激による誘発活動電位のスパイク様相や連続発火特性ならびに  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  チャネルの関わりについて、脳幹スライスを用いて検討した。

【方法】 研究には新生仔ラットを用いた。ハロセン麻酔下にて脳幹を取り出し、厚さ 250~350  $\mu\text{m}$  の脳幹スライスを作成した。この脳幹スライス内には呼吸運動に関わる神経ネットワーク (pBC 呼吸ペースメーカーニューロン、pBC 呼吸情報伝達ニューロン、呼吸性舌下神経運動ニューロン、舌下神経束) が含まれていることが重要である。まず舌下神経束から、自発性のリズム性活動を吸気性活動のモニターとして記録した。ついで、パッチ・クランプの手法を用いて、pBC 領域に分布するニューロンからホールセル記録を行ない、呼吸ペースメーカーニューロンあるいは呼吸情報伝達ニューロンを同定した。それぞれのニューロンに対して持続 2 msec の電気刺激を細胞内に加えることにより、単発性の活動電位を誘発し、その様相を観察した。さらに、持続 500 msec~1 sec の電気刺激を加えることにより、連続発火性の活動電位の様相を観察した。また、様々な薬剤 ( $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  channel blockers) を投与した際のスパイク様相の変化を解析した。

【結果】 1. 呼吸ペースメーカーニューロンにみられた medium after-hyperpolarization (mAHP) は、呼吸情報伝達ニューロンにみられた mAHP より振幅が小さく、持続時間が短かった。呼吸ペースメーカーニューロン、呼吸情報伝達ニューロンともに、連続発火時に放電頻度が徐々に減少する spike-frequency adaptation を示したものが多かった。また、刺激電流の大きさと誘発活動電位の発火頻度との関係 (f-I relationship) について検討した結果、f-I gain は呼吸ペースメーカーニューロンのほうが大きかった。

2. TEA (膜電位依存性  $\text{K}^+$  チャネルブロッカー) の脳幹培養液中への投与により action potential の持続時間と

mAHP の持続時間が増加し、放電頻度が減少した。

3. Apamin ( $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{K}^+$  チャネルブロッカー) の投与により mAHP の振幅および持続時間が減少し、放電頻度が増加した。

4. Riluzole (persistent  $\text{Na}^+$  チャネルブロッカー) の投与により、action potential、mAHP に変化は認められなかったが、放電頻度ならびに f-I gain が減少した。

5.  $\text{CdCl}_2$  ( $\text{Ca}^{2+}$  チャネルブロッカー) の投与により、action potential、mAHP に変化は認められなかったが、放電頻度ならびに f-I gain が減少した。Nimodipine (L 型  $\text{Ca}^{2+}$  チャネルブロッカー) 投与により放電頻度ならびに f-I gain が減少したが、 $\omega$ -Conotoxin (N 型  $\text{Ca}^{2+}$  チャネルブロッカー)、 $\omega$ -Agatoxin (P/Q 型  $\text{Ca}^{2+}$  チャネルブロッカー) の投与では放電頻度ならびに f-I gain に変化は認められなかった。

【考察】 呼吸ペースメーカーニューロンは pBC 領域の呼吸情報伝達ニューロンに比べて、脱分極による連続発火時の興奮性が高いことが示唆された。pBC 呼吸性ニューロンの連続発火頻度は、膜電位依存性  $\text{K}^+$  チャネルならびに  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{K}^+$  チャネルを介した action potential と mAHP 変化により、制御されていることが示唆された。pBC 呼吸性ニューロン連続発火様態は persistent  $\text{Na}^+$  チャネルならびに  $\text{Ca}^{2+}$  チャネル、主に L 型  $\text{Ca}^{2+}$  チャネルを介した f-I gain 変化により、制御されていることが示唆された。

#### 論文審査の結果の要旨

本研究は、ラット脳幹スライスを用いて pre-Bötzinger complex 領域に存在する呼吸ペースメーカーニューロンの誘発活動電位発火特性の解明を試みたものである。その結果、連続発火時における放電頻度は、膜電位依存性  $\text{K}^+$  チャネル、 $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{K}^+$  チャネルを介して、放電様態は persistent  $\text{Na}^+$  チャネルならびに  $\text{Ca}^{2+}$  チャネル (主に L-type) を介して制御されていることが示唆された。

本研究の結果は中枢における呼吸リズム調節機構の解明の一助となり、その意義は非常に大きく、博士 (歯学) の学位に値するものと認める。