

Title	5-HT3 receptor expression in the mouse vestibular ganglion
Author(s)	滝本, 泰光
Citation	大阪大学, 2016, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/55835
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

氏名 Name	滝本 泰光
論文題名 Title	5-HT ₃ receptor expression in the mouse vestibular ganglion (セロトニン3受容体のマウス前庭神経節での発現)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕	
<p>セロトニン3 (5-HT₃) 受容体は、その他の5-HT受容体 (1-7) がG蛋白共役型であることと異なり、速い神経伝達を調節している陽イオンチャネル型受容体である。5-HT₃受容体は、AとBのサブユニットがレセプターの機能に関係しており、AAホモマーでカルシウムチャネル、ABヘテロマーでナトリウムチャネルとして主に働くこと、そして、BBホモマーでは機能しないことが知られている。5-HT₃受容体阻害剤が、障害された末梢前庭機能の回復に有利に働いたとの報告があり、5-HT₃受容体阻害剤が新しい末梢性めまいの治療薬の候補になる可能性が示されているが、5-HT₃受容体の末梢前庭系での局在や機能は不明である。よって、5-HT₃受容体の末梢前庭系での局在や機能を解明するために、分子生物学的実験、生理機能実験を用いて研究を行った。</p>	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
<p>動物 (C57BL/6Jマウス) は、野生型、5-HT_{3A}受容体ノックアウト (KO) マウス、5-HT_{3A}-EGFP トランスジェニックマウスを使用した。① RT-PCR、定量PCR、In situ hybridization法にて5-HT₃受容体の前庭神経節でのmRNAの発現を、② 5-HT_{3A}-EGFPトランスジェニックマウス、免疫染色法を用いて末梢前庭系での5-HT_{3A}受容体陽性細胞の神経終末の局在を調べた。さらに③ カルシウムイメージング法を用いて、前庭神経節細胞に発現する5-HT₃受容体の作動薬 (SR57227A) に対する応答を調べた。最後に④ 行動実験、新たに開発した前庭動眼反射 (VOR) 測定装置を用いて5-HT_{3A}KOマウスの前庭機能を評価した。結果は、① 約30%の細胞の前庭神経節細胞で5-HT_{3A}受容体mRNAの強い発現を認めた。一方、5-HT_{3B}受容体の発現は非常に少なかった。よって5-HT_{3A}受容体が重要な役割を担うと考え、3Aサブタイプをターゲットにして実験を進めた。② 末梢前庭器の有毛細胞に5-HT_{3A}受容体陽性細胞 (前庭神経節細胞) の神経終末を認めた。③ 選択的5-HT_{3A}作動薬 (10 nM SR57227A) で約30%の細胞の細胞内Ca²⁺濃度が上昇した。一方、5-HT_{3A}受容体KOマウスでは反応した細胞は認めなかった。これらの結果より末梢前庭神経求心路終末で、機能的な5-HT_{3A}受容体カルシウムチャネルが働いていることが予想された。④ 行動実験 (行動観察、open field test、rotating rod test) では5-HT_{3A}受容体KOマウスに明らかな前庭機能異常を疑う所見は認めなかった。次により直接的な前庭機能評価を行うためにマウス用VOR測定装置を新たに開発した。暗視野で地平に対して垂直の軸で振り様に回転刺激を加え、誘発される眼球運動を240Hz ハイスピードカメラにて撮影した。回転刺激条件は0.5Hz、1.0Hz、2.5Hz の周波数を用いた。椅子 (頭部) の動きに対しての眼球運動の利得を計算し主に半規管の機能を評価した。結果、5-HT_{3A}受容体 KOマウスに明らかな前庭機能低下 (VOR利得低下) 所見は認めず、定常な状態では前庭機能に重要な役割は担っていないと考えられた。次に内耳が障害された病的条件下での機能を明らかにするため、耳毒性薬物であるシスプラチン投与して評価を行った。その結果、野生型ではシスプラチン投与にて高周波数である2.5Hzの刺激下でのVOR利得が低下 (前庭機能障害) 所見を認めたが、5-HT_{3A}受容体KOマウスではその低下が起らず、シスプラチンによる前庭機能毒性に対して耐性を持つことがわかった。5-HT_{3A}受容体を介したシグナル伝達がシスプラチンによって起こる前庭障害のメカニズムに関わっていると考えられた。</p>	
〔総括(Conclusion)〕	
<p>本研究の結果より、末梢前庭神経に機能的なカルシウムチャネルを有している5-HT₃受容体が発現していることがわかった。また5-HT_{3A}受容体KOマウスはシスプラチンによる前庭毒性に対して耐性があることを証明した。5-HT_{3A}受容体阻害剤がシスプラチン投与時の制吐剤のみならず、内耳毒性の治療薬としても応用できる可能性が示唆された。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名)		滝本 泰光	
論文審査担当者	(職)	氏名	
	主査	大阪大学教授	猪俣 秀典
	副査	大阪大学教授	紅藤 真
	副査	大阪大学教授	望月 香樹
論文審査の結果の要旨			
<p>セロトニン 3(5-HT₃)受容体は、速い神経伝達を調節している陽イオンチャネル型受容体である。5-HT₃ 受容体阻害剤が、障害された末梢前庭機能の回復に有利に働いたとの報告があり、5-HT₃ 受容体阻害剤が新しい末梢性めまいの治療薬の候補になる可能性が示されているが、5-HT₃ 受容体の末梢前庭系での局在や機能は不明である。よって、5-HT₃ 受容体の末梢前庭系での局在や機能を解明するために、分子生物学的実験、生理機能実験を用いて研究を行った。RT-PCR、In situ hybridization 法にて 5-HT_{3A} および 3B 受容体の前庭神経節での mRNA の発現が認められた。カルシウムイメージング法では、選択的 5-HT_{3A} 作動薬で約 30%の細胞の細胞内 Ca²⁺濃度が上昇した。一方、5-HT_{3A} 受容体ノックアウトマウスでは反応した細胞は認めなかった。これらの結果より、末梢前庭神経求心路に機能的なイオンチャネルを有している 5-HT_{3A} 受容体が発現していることが証明された。本研究の結果から 5-HT₃ 受容体が平衡覚の調整に関わっている可能性が考えられた。</p>			
<p>本研究は学位の授与に値すると考えられる。</p>			