

Title	ラット三叉神経中脳路核ニューロンにおけるAMPA型グルタミン受容体チャンネル電流のhチャンネルによる修飾
Author(s)	川崎, 康大
Citation	大阪大学, 2011, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/58447
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	川崎 康大
博士の専攻分野の名称	博士(歯学)
学位記番号	第 24461 号
学位授与年月日	平成 23 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	ラット三叉神経中脳路核ニューロンにおけるAMPA型グルタミン受容体 チャンネル電流のhチャンネルによる修飾
論文審査委員	(主査) 教授 古郷 幹彦 (副査) 教授 姜 英男 講師 加藤 隆史 講師 森本 佳成

論文内容の要旨

<研究目的>

三叉神経中脳路核 (MTN) ニューロンは、閉口筋紡錘及び歯根膜を支配する一次感覚ニューロンであり、三叉神経運動ニューロンと伸張反射回路を形成し、顎運動制御に極めて重要な役割を果たす。しかしながら、噛み締め運動の様に、筋長はそれほど変化せず張力のみ変化する準等尺性収縮運動時と、発話運動の様に、筋長は変化するが負荷の変化が小さい準等張性収縮運動遂行時には、MTN ニューロンの働きが異なる可能性が高い。

これまでの研究により、MTN ニューロンは、過分極時には、末梢枝筋紡錘から発生するインパルスの中継し中枢枝へ送る一次感覚ニューロンモード、また脱分極時には、細胞体へのシナプス入力により引き起こされるスパイクを中枢枝へ送る介在ニューロンモードという、二種類の活動モードを取り得る可能性が提唱されている。そして、細胞体に発現している AMPA 型グルタミン酸受容体 (AMPA-R) が、介在ニューロンとしての働きに重要な役割を果たすと考えられる。しかしながら、本来、末梢感覚情報を忠実に中枢神経系に情報伝達するためには、一次感覚ニューロンが中枢神経系からシナプス入力を受けることはあってはならないはずである。従って、過分極状態での一次感覚ニューロンモード時には、MTN ニューロンは、AMPA-R へのシナプス入力の影響を何らかの機構により排除している可能性があると考えられる。そこで、MTN ニューロンには、過分極により活性化される h チャンネルが極めて豊富に発現していることから、AMPA-R 電流が h チャンネルの働きによりどのような修飾を受けるかについて、電気生理学的手法を用いて検討を行った。

<材料および方法>

新生仔ラット (8~15 日齢) 脳幹スライス標本を作成し、ノマルスキー顕微鏡下で同定した MTN ニューロンからホールセルパッチクランプ記録を行なった。

目的に応じて、h チャンネル遮断薬である Cs⁺、膜透過性 cAMP アナログである 8-Br-cAMP、膜透過性 cGMP アナログである 8-Br-cGMP、Na⁺/K⁺ ATP アーゼ阻害薬である Ouabain を、人工脳脊髄液に溶解させて灌流投与した。L-Glutamic acid (Glu) または AMPA の投与は、微小ガラスピペット内に溶液を充填し、気圧式微量注出装置を用いてパフ投与した。

<結果および考察>

・Cs⁺灌流投与による h チャンネル電流 (I_h) 抑制が I_{Glu} に与える影響
保持電位を過分極させるに伴い内向きの I_{Glu} は増加したが、-80 乃至 -90mV より過分極側では I_{Glu} の内向き成分は減少し、内向き成分の減衰相に続く外向き成分が出現した。Cs⁺ を灌流投与して I_h を抑制させると、I_{Glu} の内向き成分は増加し、その減衰相に続く外向き成分は消失した。従って、I_h が I_{Glu} の抑制に関与する可能性が高いと考えられた。

・8-Br-cAMP/Cs⁺灌流投与による I_h 活性化/抑制が I_{AMPA} に与える影響
8-Br-cAMP 及び Cs⁺ の灌流投与により I_h を活性化及び抑制させると、I_{AMPA} は I_h の増減に対して逆方向に変化した。従って、I_{AMPA} は、I_h に対して負の相関を持つことが確認された。I_h と I_{AMPA} の変化量は、8-Br-cAMP 及び Cs⁺ 灌流投与下いずれにおいても有意であった。

・AMPA パフ投与および電流パルス通電による活動電位生成に対する 8-Br-cAMP の効果
静止膜電位での電流固定下において AMPA をパフ投与すると、高頻度バースト発火が引き起こされたが、8-Br-cAMP 灌流投与後では、高頻度バースト発火の生成は抑制された。その後、Cs⁺ を灌流投与すると、バースト発火が回復した。従って、I_h の活性化が、グルタミン酸作動性興奮性シナプス入力を強力に無効化している可能性が高いことが示された。

・8-Br-cGMP 灌流投与による漏洩 K⁺ チャンネル電流 (I_{K-leak}) 活性化が I_{Glu}、I_h に与える影響
8-Br-cGMP を灌流投与して I_{K-leak} を活性化させると、I_h が増加するとともに I_{Glu} の半値幅が顕著に短縮し、I_{Glu} の振幅も減少した。従って、8-Br-cGMP 灌流投与は、8-Br-cAMP 灌流投与と同様な効果をもつことが明らかとなった。これは、I_{K-leak} の活性化によって局所的な膜の過分極が引き起こされ、その結果 I_h が増強されたことによるものと考えられる。

・Ouabain 灌流投与による Na⁺/K⁺ポンプ電流抑制が I_{AMPA}、I_h に与える影響
過去の報告から、MTN ニューロンに存在する h チャンネルと Na⁺/K⁺ポンプは、細胞膜の微絨毛様突起上で共存し Na⁺イオンマイクロドメインを共有していることが明らかとなっている。Ouabain を灌流投与して h チャンネルと相互関係を持つ Na⁺/K⁺ポンプを阻害すると、I_h の増加とともに I_{AMPA} の減少を認めた。従って、この実験においても、I_{AMPA} は I_h に対して負の依存性を持つことが示され、h チャンネルと AMPA-R は、Na⁺イオンマイクロドメインを共有している可能性が高いと考えられた。

<結論>

これらの結果から、MTN ニューロンでは、AMPA 型グルタミン酸受容体チャンネルと h チャンネルが Na⁺マイクロドメインを共有し、その結果、I_{AMPA} が I_h の働きにより抑制されることが明らかとなった。MTN ニューロンには、cAMP の生成を促す代謝調節型シナプス入力が存在することが知られており、それらのシナプス入力によって I_h が活性化される。従って、そうしたシナプス入力が活性化された状態、或いは、膜が過分極した状態では、グルタミン酸作動性シナプス入りに影響されることなく一次感覚ニューロンの機能モードを維持し得

ることが示された。

論文審査の結果の要旨

本研究は、ラット三叉神経中脳路核ニューロンにおける AMPA 型グルタミン酸受容体チャネル電流が、h チャネルによりどのような修飾を受けるかについて、電気生理学的手法を用いて検討した。

その結果、漏洩 K^+ チャネルの活性化による過分極、或いは、cAMP の働きにより h チャネルが活性化された状態では、AMPA 型グルタミン酸受容体チャネル電流が抑圧されることを明らかにした。

本研究は、三叉神経中脳路核ニューロンが、興奮性シナプス入力を無効化し、一次感覚ニューロンとしての働きを維持するイオン機構を明らかにしたものであり、博士（歯学）の学位申請に値するものである。