

Title	青斑核ニューロンと三叉神経中脳路核ニューロン間における神経伝達機構の解明
Author(s)	豊田, 博紀
Citation	大阪大学歯学雑誌. 2023, 67(2), p. 1-4
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/97681
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

青斑核ニューロンと三叉神経中脳路核ニューロン間における神経伝達機構の解明

豊田 博紀

(令和5年3月4日受付)

はじめに

脳幹に位置する青斑核には、ノルアドレナリンを産生、放出するノルアドレナリン作動性ニューロンが存在している。ノルアドレナリン作動性ニューロンは、軸索を脳のほぼ全域に投射しており、軸索末端からノルアドレナリンを放出することにより、注意、学習、記憶、ストレスや覚醒などの脳機能調節に関与している¹⁾。ノルアドレナリン作動性ニューロンが興奮すると、脳の広い範囲を同時に活性化することから、広範囲調節系と呼ばれている²⁾。ノルアドレナリンなどのモノアミン作動性ニューロンの軸索は通常のニューロンと異なり、一対一のシナプス結合を形成せず、軸索が枝分かれした数珠状の構造であるバリコシティから伝達物質を放出している³⁾。放出された伝達物質はシナプス外を拡散によって伝わり、不特定多数のニューロンに対して信号を伝えており、このような伝達の仕組みは、拡散性伝達と呼ばれている⁴⁾。しかし、ノルアドレナリンの拡散性伝達の機序には不明な点が多い。

麻酔下あるいは無麻酔下の動物では、青斑核ニューロンは5 Hz以下のゆっくりとした自発発火を示しているが、青斑核ニューロンは外界からのすべての感覚刺激に対して発火頻度を増大させ、ノルアドレナリンの放出を増加する⁵⁾。したがって、ノルアドレナリンの拡散性伝達は、青斑核ニューロンの活動状態に依存した発火頻度の変化により影響を受けているものと考えら

れる。

三叉神経中脳路核ニューロンは唯一脳に存在する一次感覚ニューロンであり、末梢感覚受容器として、歯根膜機械受容器と閉口筋の筋紡錘を支配している⁶⁾。三叉神経中脳路核ニューロンは脳内に存在するため、他の一次感覚ニューロンとは異なり、他のニューロンからのシナプス入力を受けているという特性がある⁷⁾。また、三叉神経中脳路核ニューロンは青斑核ニューロンに隣接して存在しており、青斑核ニューロンからのノルアドレナリン作動性シナプス入力が存在することが知られている⁸⁾。そこで本研究では、青斑核ニューロンと三叉神経中脳路核ニューロン間におけるノルアドレナリンの拡散性伝達に着目し、その詳細な機序を明らかにすることを目的とした。本稿では、研究成果⁹⁾の概要を報告する。

青斑核ニューロンから 三叉神経中脳路核ニューロンへの ノルアドレナリン作動性神経線維の投射

免疫組織化学染色を用いて、青斑核ニューロンから三叉神経中脳路核ニューロンへのノルアドレナリン作動性神経線維の投射様式を確認した。本研究では、三叉神経中脳路核ニューロンを同定するため、一次ニューロンのマーカーであるアドビリンに対する抗体を使用した。また、青斑核ニューロンを同定するため、チ

* 大阪大学大学院歯学研究科 口腔生理学講座 (口腔生理学教室)

本総説の内容の一部は、令和5年3月2日に開催された大阪大学歯学会第134回例会において、第25回大阪大学歯学部弓倉学術賞の受賞講演 (対象論文: Toyoda, *et al.*, The Nature of Noradrenergic Volume Transmission From Locus Coeruleus to Brainstem Mesencephalic Trigeminal Sensory Neurons. *Front Cell Neurosci* 16: 841239, 2022) として発表した。

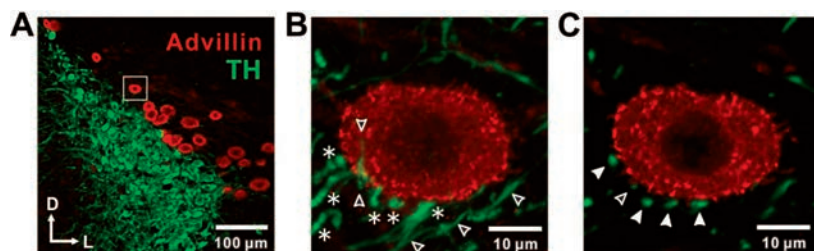


図1 青斑核ニューロンから三叉神経中脳路核ニューロンへのノルアドレナリン作動性神経の投射
(A) アドビルリン (Advillin) およびチロシン水酸化酵素 (TH) の発現分布。(B) 1 μm 間隔で撮影した8連続画像を用いて作成したZスタック画像。(C) Bで使用した画像のうち、2番目の画像。

ロシン水酸化酵素に対する抗体を使用した。その結果、チロシン水酸化酵素陽性ニューロンが、アドビルリン陽性ニューロンに近接して存在していた (図1A)。さらに強拡大で観察すると、三叉神経中脳路核ニューロンの細胞体の周囲にチロシン水酸化酵素陽性を示す数珠状の膨らみが多数認められ (図1B)、一つ一つの膨らみは三叉神経中脳路核ニューロンに直接接触していないことが明らかになった (図1C)。したがって、青斑核ニューロンの軸索終末は三叉神経中脳路核ニューロンの細胞体に直接シナプス結合せず、拡散性伝達によりノルアドレナリンの伝達が行われている可能性が示唆された。さらに、三叉神経中脳路核ニューロンにおける $\alpha 2$ アドレナリン受容体の発現を検討したところ、三叉神経中脳路核ニューロンの細胞膜に沿って $\alpha 2$ アドレナリン受容体の発現が認められた。

青斑核ニューロンから三叉神経中脳核ニューロンへのノルアドレナリンの拡散性伝達

ラットの三叉神経中脳路核ニューロンでは、 $\alpha 2$ アドレナリン受容体の活性化により、過分極活性化サイクリックヌクレオチド依存性 (HCN) 電流が減少することが知られている¹⁰⁾。そこで、青斑核ニューロンから三叉神経中脳路核ニューロンへのノルアドレナリンの伝達効率を定量化するため、青斑核ニューロンおよび三叉神経中脳路核ニューロンから同時パッチクランプ記録を行い、青斑核ニューロンの活性化により放出されるノルアドレナリンが、三叉神経中脳路核ニューロンで記録される HCN 電流をどのような規則性を持って抑制するかについて検討した。

青斑核ニューロンに対し、30秒ごとに20 Hzのスパイク発火を引き起こすように1秒間の電流パルスを与えると、三叉神経中脳路核ニューロンで記録される基電流が外向きにシフトし、それと同時に、HCN電流の

振幅がスパイク数の増加とともに減少した (図2A, B)。青斑核ニューロンに誘発されるスパイク列の数または電流パルス注入数と三叉神経中脳路核ニューロンから記録される HCN 電流の振幅抑制との間には、ヒルの式で近似される関係が認められた (図2C)。次に、青斑核に30秒ごとに微小電極刺激を与えると、青斑核ニューロンは一過性の高頻度発火とそれに続く5~10 Hzの持続性発火を繰り返した。この際も、青斑核ニューロンで生じるスパイク列の数と三叉神経中脳路核ニューロンで記録される HCN 電流の振幅抑制との間には、ヒルの式で近似される関係が認められた。しかし、後者のヒル係数が前者より小さかったことから、ノルアドレナリンを介した伝達効率が小さいものと考えられた。さらに、青斑核ニューロンに5~10秒ごとに電流パルスを与えると、これまでの2つの結果とは対照的に、HCN電流の抑制は認められたが、その後HCN電流の抑制が停止した。これらの結果から、青斑核ニューロンの活動状態に応じて、異なるモードが存在する可能性が示唆された。

ノルアドレナリン作動性ニューロンを介する HCN 電流の抑制は cAMP の減少により生じる

三叉神経中脳路核ニューロンでは、 $\alpha 2$ アドレナリン受容体の活性化により HCN 電流が減少するが、そのシグナル伝達系については不明である。このため、PKC阻害剤であるケレリスリンおよびcAMP活性化因子である8-Br-cAMPを用いて、シグナル伝達系について検討した。三叉神経中脳路核ニューロンからホールセルパッチクランプを形成し、電圧固定下の状態でノルアドレナリンを灌流投与すると、基電流が外向きにシフトし、それと同時に HCN 電流の減少が認められた。その後、ノルアドレナリンの存在下でケレリスリンを灌流投与したが、基電流および HCN 電流に変化は認め

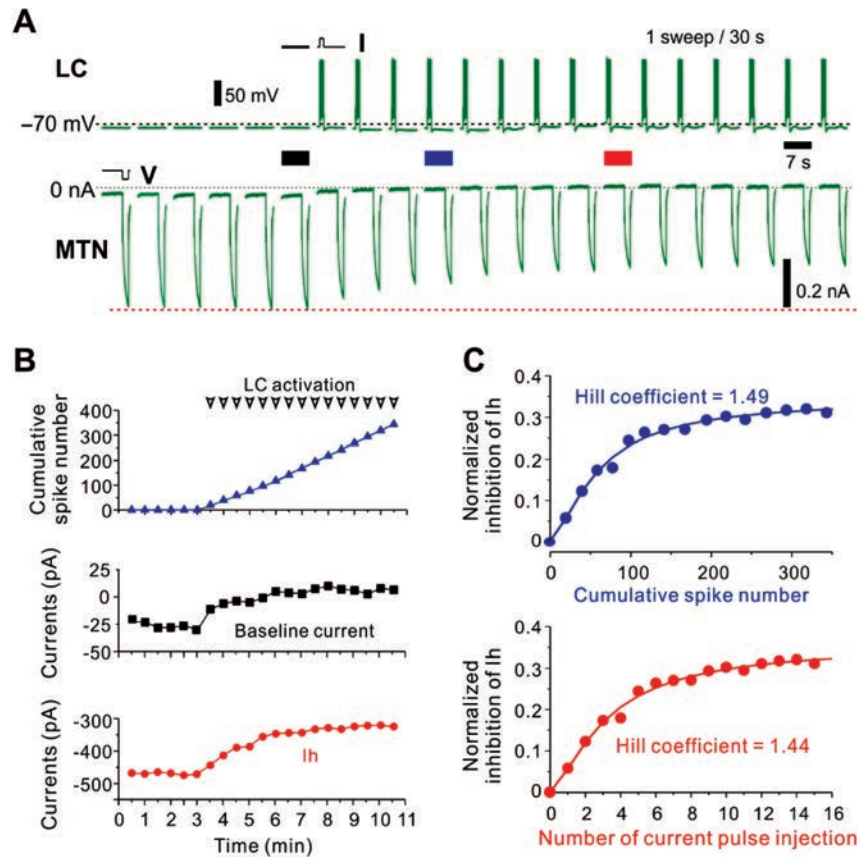


図2 三叉神経中脳路核ニューロンで記録される HCN 電流に対する青斑核ニューロンで誘発されるスパイク発火の影響 (A) 上段：青斑核ニューロンにおいて、30 秒ごとに誘発されるスパイク列。下段：三叉神経中脳路核ニューロンにおいて記録される HCN 電流。(B) 上段：時間経過と青斑核ニューロンで誘発された累積スパイク数の関係。中段：時間経過と三叉神経中脳路核ニューロンで記録された基電流の関係。下段：時間経過と三叉神経中脳路核ニューロンで記録された HCN 電流の関係。(C) 上段：青斑核ニューロンで誘発された累積スパイク数と三叉神経中脳路核ニューロンで記録された HCN 電流の関係。下段：青斑核ニューロンで誘発された電流パルス注入数と三叉神経中脳路核ニューロンで記録された HCN 電流の関係。

られなかった。一方、ノルアドレナリンの存在下で 8-Br-cAMP を灌流投与したところ、基電流が内向きにシフトし、HCN 電流の増加が認められた。これらの結果から、ノルアドレナリン作動性ニューロンを介する HCN 電流の抑制は、cAMP の減少により生じていることが明らかになった。

おわりに

本研究により、青斑核ニューロンから三叉神経中脳路核ニューロンへのノルアドレナリンの拡散性伝達には、青斑核ニューロンの活動状態に応じて異なるモードが存在することが明らかになった。三叉神経中脳路核ニューロンは閉口筋の筋紡錘感覚を司り、閉口筋の活動制御に関わっていることから、青斑核ニューロンの活動状態に応じて、閉口筋活動が巧妙に制御されている可能性が示唆される。

謝 辞

稿を終えるにあたり、本研究において御指導を賜りました大阪大学大学院歯学研究科 姜英男名誉教授およびソウル大学歯学部神経生物学・生理学講座 Seog Bae Oh 教授に深甚なる謝意を表します。

文 献

- 1) Berridge CW, Waterhouse BD (2003): The locus coeruleus-noradrenergic system: modulation of behavioral state and state-dependent cognitive processes. *Brain Res Rev.* **42**: 33-84.
- 2) Gray R, Johnston D (1987): Noradrenaline and beta-adrenoceptor agonists increase activity of voltage-dependent calcium channels in hippocampal neurons. *Nature* **327**: 620-622.
- 3) Cowen T, Burnstock G (1982): Image analysis of catecholamine fluorescence. *Brain Res Bull.* **9**: 81-86.
- 4) Agnati LF, Zoli M, Stromberg I, Fuxe K (1995):

- Intercellular communication in the brain: wiring versus volume transmission. *Neuroscience*. **69**: 711–726.
- 5) Florin-Lechner SM, Druhan JP, Aston-Jones G, Valentino RJ (1996): Enhanced norepinephrine release in prefrontal cortex with burst stimulation of the locus coeruleus. *Brain Res*. **742**: 89–97.
 - 6) Passatore M, Lucchi ML, Filippi GM, Manni E, Bortolami R (1983): Localization of neurons innervating masticatory muscle spindle and periodontal receptors in the mesencephalic trigeminal nucleus and their reflex actions. *Arch Ital Biol*. **121**: 117–130.
 - 7) Hayar A, Poulter M, Pelkey K, Feltz P, Marshall KC (1997): Mesencephalic trigeminal neuron responses to γ -aminobutyric acid. *Brain Res* **753**: 120–127.
 - 8) Takahashi T, Shirasu M, Shirasu M, Kubo KY, Onozuka M, Sato S, Itoh K, Nakamura H (2010): The locus coeruleus projects to the mesencephalic trigeminal nucleus in rats. *Neurosci Res*. **68**: 103–106.
 - 9) Toyoda H, Won J, Kim W, Kim H, Davy O, Saito M, Kim D, Tanaka T, Kang Y, Oh SB (2022): The Nature of Noradrenergic Volume Transmission From Locus Coeruleus to Brainstem Mesencephalic Trigeminal Sensory Neurons. *Front Cell Neurosci*. **16**: 841239.
 - 10) Won J, Lee PR, Oh SB (2019): Alpha 2 adrenoceptor agonist guanabenz directly inhibits hyperpolarization-activated, cyclic nucleotide-modulated (HCN) channels in mesencephalic trigeminal nucleus neurons. *Eur J Pharmacol*. **854**: 320–327.