

論文審査の結果の要旨

氏名：寺 門 正 則

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：Adrenergic regulation of GABA release from presynaptic terminals in rat cerebral cortex

（島皮質 GABA 作動性終末におけるアドレナリン性シナプス前制御機構の解明）

審査委員：（主査） 教授 今 村 佳 樹 ㊞

（副査） 教授 越 川 憲 明 ㊞ 教授 岩 田 幸 一 ㊞

教授 大 井 良 之 ㊞

大脳皮質は、尖頭樹状突起をもつ興奮性錐体ニューロンと GABA 作動性抑制性介在ニューロンに大別される。近年の研究で、ノルアドレナリンが大脳皮質の生理的機能の調節に重要な役割を果たしていることが明らかになりつつある。例えばノルアドレナリンは、大脳皮質視覚野での抑制性シナプス応答でみられる長期可塑性 (long-term potentiation; LTP) の維持に必要とされ、視覚応答の経験依存的な変化に重要な働きを果たす。また嗅内皮質においてノルアドレナリンは、GABA_A 受容体拮抗薬である bicuculline で誘発されるてんかん様放電を減弱し、GABA 作動性抑制性介在ニューロンがノルアドレナリンに対して特異的な電気生理学的ならびに薬理学的応答を示すと考えられている。

ラット大脳皮質の抑制性シナプス後電流 (IPSC) に対する α -アドレナリン受容体を介した作用については、 α -アドレナリン受容体の賦活化によって GABA_A 受容体由来の自発性 IPSC (sIPSC) の発生頻度を増加させることが知られている。この sIPSC における増強効果は、 α_1 受容体の動員を介しており GABA 作動性介在ニューロンにおける静止膜電位の脱分極により惹起されると推察されている。ノルアドレナリンによる α_1 受容体の活性化を介した微小 IPSC (mIPSC) の発生頻度の増加を報告した研究がある。また Bennett らは、電気刺激によって誘発される IPSC (eIPSC) に対するアドレナリンの多様な作用について報告している。この中で、アドレナリンによって 33% の錐体ニューロンが eIPSC の増大を示し、40% のニューロンが eIPSC の減弱を示した。この所見は、 α_1 受容体作動薬による抑制性シナプス伝達に対する多面的な修飾機構の可能性を示唆する。したがって、抑制性シナプス伝達におよぼすノルアドレナリンの影響については未だ議論の余地がある。一方、 β 受容体の大脳皮質における作用として、シナプス前終末からのグルタミン酸放出を増強させることや静止膜電位を脱分極させ、発火の順応を阻害することが知られている。しかし、抑制性シナプス応答におよぼす β 受容体の影響はほとんど分かっていない。

そこで本研究の著者は、ラット大脳皮質視覚野のスライス標本において第 V 層の錐体ニューロンからホールセル・パッチクランプ法により eIPSC および mIPSC を記録し、 α ならびに β 受容体を介した IPSC の修飾機構を解析した。その実験の内容と結論は以下の通りである。

Sprague-Dawley ラット (14-35 日齢) をペントバルビタール (75 mg/kg, i.p.) 麻酔下で断頭し、皮質視覚野を含む脳ブロックを摘出した。スライス標本作製用の人工脳脊髄液を氷冷し、その液中で厚さ 350 μ m の皮質視覚野を含む冠状断急性スライス標本作製した。スライス標本を記録用チェンバーに移動した後、近赤外線微分干渉顕微鏡で第 V 層の錐体ニューロンを同定した。Cesium gluconate を基剤とした電極内液を充填したガラス電極を用いて、eIPSC ならびに mIPSC を記録した。双極タンゲステン刺激電極を第 IV および第 V 層の境界上に設置し、10 連の脱分極性矩形波 (100 μ s) を通電して eIPSC を誘発した。

電気刺激によって惹起される eIPSC は、GABA_A 受容体の遮断薬 bicuculline の投与で消失した。1 発目の刺激によって誘発した IPSC (IPSC₁) の振幅と 2 発目の振幅の比で示される paired pulse ratio (PPR) 値は、IPSC₁ 振幅値と相関していなかった。 α 受容体作動薬で phenylephrine 100 μ M の投与により、eIPSC₁ の振幅は、33.3% のニューロンで 27% 減少し、8.7% のニューロンで 7.1% 増強した。また、58.3% のニューロンでは phenylephrine の効果が認められなかった。

PPR は、対照群で 0.80 ± 0.12 、phenylephrine 投与群で 0.80 ± 0.13 であった。eIPSC₁ の振幅と PPR との間に有意な正の相関が認められ、phenylephrine は低振幅を示す eIPSC 応答の PPR 値を減少させ、高振幅を示す eIPSC の PPR 値を増加させた。また β 受容体作動薬である isoproterenol (100 μ M) は、eIPSC₁ の振幅を変

化させなかった。

Tetrodotoxin (1 μ M) 存在下で測定した mIPSC の振幅 (15.4 ± 1.3 pA) は, phenylephrine 投与によって有意に減少した (13.6 ± 1.0 pA; $n=9$, $P < 0.01$, paired t -test)。また, interevent interval も (0.50 ± 0.12 s), 対照群 (0.70 ± 0.19 s) と比べて有意に減少した ($n=9$, $P < 0.001$, K-S test)。Isoproterenol は, mIPSC の振幅を 17.9 ± 2.0 pA から 16.3 ± 1.4 pA へ減少させた ($n=8$, $P < 0.05$, paired t -test)。Interevent interval は, 対照群 (0.45 ± 0.16 s) と比較して 0.34 ± 0.11 s と有意に減少した ($n=8$, $P < 0.05$, paired t -test)。したがって phenylephrine ならびに isoproterenol は, 神経終末からの GABA の放出を促進させる一方で, シナプス後ニューロンに発現する受容体の活性化を介し, GABA_A 受容体由来のシナプス電流を減少させることが示唆された。

大脳皮質に存在する介在ニューロンは少なくとも 4 種類に分類される。これらの介在ニューロンは, 標的とする錐体ニューロンと形成するシナプスの位置によって, 2 グループに分けることができる。このうち fast-spiking ニューロン (FS) は, その抑制性シナプスを錐体ニューロンの soma 周辺部ならびに近位の樹状突起に形成する。したがって FS ニューロンの動員によって生じる IPSC の振幅は大きい。一方, regular spiking ニューロン, low threshold ニューロンならびに late-spiking ニューロンから構成される non-FS ニューロングループは, ターゲットニューロンの soma から遠位の樹状突起にシナプスを形成し, 比較的振幅の小さい IPSC を発生させることが多い。 α および β 受容体作動薬による eIPSC から算出される PPR 値の変化と mIPSC の発生頻度の減少は, これらの受容体が GABA 放出機構を修飾する可能性を示している。特に, IPSC 振幅と PPR 値との間に認められた正の相関は, アドレナリン作動性のシナプス伝達の修飾機構が, FS ニューロンとそれ以外の non-FS ニューロングループといった介在ニューロンにおけるニューロンのサブタイプによって異なる可能性があると考えられた。

以上, 本研究結果は高次味覚情報処理機構の一端を解明したもので, 歯科基礎医学研究の発展に寄与するところ大であると考えられた。

よって本論文は, 博士 (歯学) の学位を授与されるに値するものと認められる。

以 上

平成 26 年 3 月 5 日