

【24】

氏名(本籍)	倉橋隆 (愛知県)
学位の種類	理学博士
学位記番号	博甲第716号
学位授与年月日	平成2年3月23日
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当
審査研究科	生物科学研究科
学位論文題目	Transduction mechanisms in the olfactory receptor cell. (嗅細胞における匂い情報変換機構)
主査	筑波大学教授 理学博士 渋谷 達 明
副査	筑波大学教授 理学博士 内藤 豊
副査	筑波大学教授 理学博士 藤伊 正
副査	筑波大学助教授 理学博士 斎藤 建彦

論 文 の 要 旨

匂い分子を受容する嗅細胞は、匂い刺激によって受容膜に脱分極性の受容器電位を発生し、活動電位列に変換して脳に神経情報を伝達する。しかし、それらの電位の膜レベルにおける発生機構については、これまでの技術的方法の限界もあって詳細に解明されていなかった。本論文は嗅粘膜から嗅細胞を単離し、それにパッチクランプ法と呼ばれる新しい技法を導入し、嗅細胞の匂い受容時における膜の受容器電位発生メカニズムを明らかにした。

両棲類のイモリの嗅粘膜を酵素処理することによって、直径約20 μ mの細胞体を持ち、樹状突起と軸索を1本づつもつ双極性の嗅細胞を、その機能を失うことなく単離した。単離嗅細胞膜に先端直径約1 μ mのガラスピペットを押しあて、ピペット内部を吸引し、高い密着抵抗(1 G Ω 以上)を得ることによって膜の活動を記録した。

これらの嗅細胞の静止電位は約-45mVであった。そして電流固定条件下で、脱分極時の活動電位に対するイオンチャンネルを各阻害剤を用いて調べると、活動電位の立ち上がりにはNaチャンネルとCaチャンネルが、またKチャンネルは再分極相に関与していた。Naチャンネルは-40mVより脱分極側で活性化し、その持続時間は数msecであった。Caチャンネルは-40mVより脱分極側で活性化し、持続的なL型に属するものと考えられた。また脱分極からわずかに遅れて活性化する遅延整流性およびCa依存性Kチャンネルの二つが観察された。

嗅細胞を10mM アミルアセテートで刺激すると、脱分極性緩電位応答がみられた。これに対しd-リモネンに顕著な応答を示すものもあった。脱分極応答の振幅は刺激濃度の増加に依存して増大した。

刺激ピペット先端を細胞の各位置におき、局所的匂い刺激を行うと、単離嗅細胞は樹状突起先端部で最も高い感受性を示した。

一方、匂い刺激は嗅細胞膜のコンダクタンスを顕著に増大させ、内向き電流を発生させる。応答の電流-電圧特性は静止電位より脱分極側では、単調な増大傾向を示したが、過分極側では外向き整流作用を示した。10mM アミルアセテートによるコンダクタンスの上昇は約 3 nS であった。細胞外の Na をコリンに置換し Na 濃度を減少させると、膜の反転電位はマイナス側に移行するが、Na 濃度の10倍変化に対して反転電位は57mV のシフトを示した。これは細胞外の Na イオンがチャンネルを通過することを示している。さらに Na を Li, K, Rb などのイオンに置きかえて匂い刺激を与えると膜のコンダクタンスは増大するが、Goldman-Hodgkin-Katz の式によってえられるイオンの透過性の順位は $Ca > Li > Na > K > Rb > Cs$ となった。一方、Cl イオンなどの陰イオンはチャンネルをほとんど通過しなかった。

また、嗅細胞内に cAMP を注入し、それによって誘起される応答をみると、cAMP に対する感受性は嗅繊毛膜に局在し、開口するチャンネルは陽イオン選択性であり、そして Ca 依存性の不活性化過程を示した。このことから cAMP 活性化チャンネルは匂い分子によって開くチャンネルと同一のものであることが推定された。

審 査 の 要 旨

著者は、匂い受容によって発生する脱分極性の受容器電位が、膜の陽イオンコンダクタンスの増大によることを証明した。また匂い物質によって活性化されるコンダクタンスはすべてアルカリ金属イオンに対して同程度の透過性を有し、Ca に対してはさらに高い透過性を示すことをみた。さらに匂いの受容サイトからチャンネルの活性化に至る過程を cAMP が仲介する可能性を示した。即ち、嗅細胞に匂い分子が結合すると、アデニレートシクラーゼが活性化し、細胞内の cAMP 濃度が上昇し、最終的に陽イオンチャンネルを開口することで受容器電位が発生する。そして、膜の脱分極後、Na チャンネル、Ca チャンネル、2つのKチャンネルの相互作用によって活動電位が発生し、それが脳へ伝達されることが明らかになった。これらの嗅細胞の情報変換の詳細な機構が明らかになったことによって、嗅受容のみでなく感覚生理学分野の研究の発達に大きく寄与すると考えられ高く評価される。

よって、著者は理学博士の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。