

氏名(本籍)	まえしまとおる 前島 徹(千葉県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博乙第1630号
学位授与年月日	平成12年5月31日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
審査研究科	医学研究科
学位論文題目	The Cellular Localization of 5-HT _{2A} Receptors in the Spinal Cord and Spinal Ganglia of the Adult Rat (成獣ラットの骨髄および骨髄神経節におけるセロトニン2A受容体の細胞局在)
主査	筑波大学教授 医学博士 工藤 典雄
副査	筑波大学教授 医学博士 庄 司 進 一
副査	筑波大学教授 医学博士 野 口 雅 之
副査	筑波大学助教授 理学博士 志 賀 隆

論文の内容の要旨

(目的)

セロトニン(5-HT)神経系のうち延髄縫線核に起始する5-HT繊維は脊髄に投射し、運動ニューロンの興奮、単シナプス反射、交感神経節前ニューロンの興奮、痛覚伝導系などにおいて調節的な働きをしていると考えられている。一方、5-HTの受容体サブタイプは少なくとも14種類知られているが、その中でセロトニン2A受容体(5-HT_{2A}受容体)は精神疾患と深い関わりのある主要な5-HT受容体サブタイプとして大脳や脳幹を中心として形態学的研究が進んでいる。しかしながら脊髄では必ずしも十分に5-HT_{2A}受容体の形態学的研究が進んでいるとは言えない。そこで主として電気生理学的又は薬理学的に研究されてきた5-HT_{2A}受容体について脊髄での分布を形態学的に明らかにするために、5-HT_{2A}受容体の免疫組織化学的研究を行った。

(対象と方法)

マウスの5-HT_{2A}受容体C末端(65アミノ酸残基)またはラットの5-HT_{2A}受容体N末端(20アミノ酸残基)に対する2種類のポリクローナル抗体を用いた。生後9週のオスのウィスター系ラット(4匹)を深麻酔下でゼンボン液にて灌流固定し、脊髄および脊髄神経節を取り出した。第3, 第7頸髄, 第3, 第7, 第11胸髄, 第3, 第6腰髄, 第1, 第2仙髄および脊髄神経節(第5腰節)を切り出し、O.C.T.コンパウンドに凍結包埋した。クライオスタットにて10 μ m厚の切片を作成した。5%正常ヤギ血清でブロッキングした後、アビジン/ビオチンブロッキングを行った。1次抗体としては主として5-HT_{2A}受容体C末端抗体を用いた。2次抗体にビオチン化ヤギ抗ウサギ抗体を用い、ABCキットを用いた後diaminobenzidineで発色を行った。

(結果)

5-HT_{2A}受容体に対する免疫陽性反応は本質的には観察したすべての脊髄レベルで同じであった。脊髄後角の神経細胞は、中間質外側部、内側部、前角領域と比べると免疫陽性反応が弱かった。しかしながら後角でも比較的大きな細胞で強い免疫陽性反応を示すものが観察された。胸髄中間質外側核の神経細胞は中程度の免疫陽性反応を示したが、仙髄中間質外側核の神経細胞での免疫陽性反応はわずかであった。脊髄前角にある運動ニューロン

は非常に強い免疫陽性反応を示した。運動ニューロンは細胞体と近位樹状突起で免疫陽性反応が見られた。細胞体では細胞膜付近で特に強い反応が見られたが、細胞質でもパッチ状の免疫陽性反応が見られた。しかし、核内での陽性反応は見られなかった。脊髄白質では多くのグリア細胞が免疫陽性反応を示した。脊髄神経節では神経細胞体の大きさにかかわらず多くの細胞体が免疫陽性であった。

(考察)

前角、後角など部位別の分布に関する今回の観察結果は、従来の研究方法の結果と一致しており矛盾がなかった。即ち前角と比べ後角では免疫陽性反応が弱かった。特に運動ニューロンの細胞体に強い免疫陽性反応がみられ、運動ニューロンの活動に5-HT_{2A}受容体が深く関与している可能性が示唆された。胸髄中間質外側核の神経細胞は5-HT_{2A}受容体のアゴニストであるDOIをリガンドとした受容体オートラジオグラフィ法では結合能を示したが、免疫組織化学的には中程度の免疫陽性反応しか示さなかった。これはDOIが5-HT_{2A}受容体のみならず5-HT_{2C}受容体にも結合してしまったためではないかと考えられる。5-HT_{2A}受容体は痛みを増強する働きがあるという生理学的な報告から、後角で強い免疫陽性反応を示した神経細胞は痛みの調節に関与しているのではないかと思われる。脊髄白質では多くのグリア細胞が免疫陽性反応を示した。おそらく5-HT_{2A}受容体は神経細胞のみならずグリア細胞にも存在しているものと考えられる。脊髄神経節には生理学的研究やPCR法による研究によって5-HT_{2A}受容体の存在が報告されていたが、免疫組織化学的な方法により、その存在が形態学的に明らかになった。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、脊髄におけるシナプス伝達に重要な役割を担っている5-HT_{2A}受容体の脊髄内分布様式を5-HT_{2A}受容体タンパク質に対する特異的抗体を用いて調べ、後角の比較的大型のニューロンと前角運動ニューロンに強い免疫陽性反応が認められることを明らかにした。これらの結果から、5-HT_{2A}受容体は後角での情報伝達や運動ニューロンの活動に深く関与している可能性が示唆された。これまでin situハイブリダイゼーション法および受容体オートラジオグラフィによる方法では不明であった5-HT_{2A}受容体の細胞レベルでの分布について初めて明らかにしたものであり、学位論文としては十分な内容をもつと判断される。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。