

氏名(本籍)	にしまるひろし 西丸 広史 (広島県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博甲第1,940号
学位授与年月日	平成10年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	医学研究科
学位論文題目	Spontaneous motoneuronal activity mediated by glycine and GABA in the spinal cord of rat fetuses <i>in vitro</i> . (グリシン及びGABAによって誘発されるラット胎児脊髄運動ニューロン群の自発性発射活動)
主査	筑波大学教授 医学博士 大野 忠雄
副査	筑波大学教授 医学博士 庄 司 進 一
副査	筑波大学講師 医学博士 石 川 智 久

論文の内容の要旨

(目的)

脊椎動物における基本的運動パターンの発生に関与する神経回路は脊髄にあり、出生時にはすでに完成していることが知られている。しかし、この神経回路が胎生期に形成される機序に関しては不明な点が多い。ラットでは、胎生15~16日にかけて四肢の自発運動が初めて観察される。しかし、この自発運動がどのような神経機構を介して誘発されるのかも明らかでない。また、成熟動物の脊髄では、グルタミン酸が興奮性伝達物質として、グリシンおよびγ-アミノ酪酸(GABA)が抑制性伝達物質として作用するが、胎生期におけるこれらのアミノ酸の機能については不明な点が多い。本研究は、発生過程における上記3種のアミノ酸性伝達物質の作用に注目し、四肢の自発運動を発生させる神経機構の生理・薬理的性質及び、その形成過程を明らかにすることを目的としたものである。

(方法)

実験は、胎生13.5~18.5日のラット胎児の脊髄摘出標本を用いて行った。ガラス管吸引電極で脊髄前根から脊髄運動ニューロンの自発性発射活動を記録した。脊髄におけるシナプス伝達を遮断した効果を検討するために、カルシウム・イオンを除去したクレブス液、あるいはナトリウム・チャンネル阻害薬であるテトロドトキシン(1 μM)を添加したクレブス液で標本を灌流した。さらに、キヌレン酸(4 mM)、ストリキニーネ(5-10 μM)、ピキユクリン(10-40 μM)を灌流投与することにより、グルタミン酸受容体、グリシン受容体、GABA_A受容体を介するシナプス伝達を特異的に遮断した。またグリシン(250 μM-2 mM)を一過性に灌流液中に投与することにより、これらのアミノ酸が脊髄のニューロン群に及ぼす効果を検討した。

(結果と考察)

胎生14.5~17.5日の標本で、腰髄前根に、数分の間隔で出現し数秒間持続する自発性発射活動が観察された。これは子宮内での四肢の自発運動の時間経過とよく一致することから、胎生期の自発運動は脊髄起源であることが示された。カルシウム・イオンを除去したクレブス液、あるいはテトロドトキシンを添加したクレブス液で灌流すると、この自発性発射活動は消失した。

胎生14.5~16.5日の標本では、この自発性発射活動は、キヌレン酸の灌流投与で消失しなかったが、ストリキ

ニーネの灌流投与で消失した。また、ピキユクリンの投与では完全には消失しなかったものの、活動の振幅および出現頻度が減少した。さらに、胎生15.5日の標本では、グリシンを灌流液中に一過性に投与すると、時間経過や振幅において自発性発射活動と類似した興奮性応答が見られた。この応答は、カルシウム・イオンを除去したクレブス液中では見られなかった。さらに、この応答は、ストリキニーネの灌流投与によって消失した。

胎生16.5日の一部および胎生17.5日のすべての標本で、自発性発射活動はストリキニーネの灌流投与で消失せず、キヌレン酸の灌流投与で消失した。

以上の結果より、胎生14.5～17.5日の脊髄前根で見られる自発性発射活動は、化学シナプスを介した運動ニューロンへの興奮性入力によるものであることが考えられる。さらに、胎生14.5～16.5日にはグリシン受容体およびGABA_A受容体を介した興奮性シナプス入力により、16.5日以降は主にグルタミン酸受容体を介した興奮性入力により、運動ニューロン群に周期的な自発性発射活動が引き起こされていると結論される。

審 査 の 結 果 の 要 旨

ラット胎児の自発運動は、シナプスを介する興奮性入力により脊髄運動ニューロンが周期的に活動した結果生じ、この活動は脊髄前根の自発性発射活動として記録されることが示された。また、脊髄において自発性発射活動に関与する神経回路が形成される発生初期の段階（胎生14.5～16.5日）には、成熟動物の中樞神経系で抑制性の伝達物質として作用することが知られているグリシンとGABAが主として興奮性に作用し、胎生16.5日以降には、グルタミン酸が主として興奮性に作用することが明らかになった。すなわち、胎生16.5日前後に、この自発性発射活動を引き起こす神経回路に対する興奮性伝達物質がグリシンとGABAからグルタミン酸に変化する機構が存在する可能性が示された。この自発性発射活動は、脊髄反射や歩行運動のための神経回路が形成され始める時期に見られるので、これらの神経回路の形成に重要な役割を果たしている可能性が考えられる。本研究は、胎児の自発運動を引き起こす神経機構の実体を明らかにするまでには至らなかったが、神経発生の過程におけるニューロンの膜の性質の変化、シナプス結合の可塑的变化、ならびに神経回路形成の機序等を明らかにしていく上で重要な知見をもたらしており、高く評価できる。

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。