

氏名(本籍)	しゅ とう ふみ ひろ 首藤文洋(宮城県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博甲第2376号
学位授与年月日	平成12年3月24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	セロトニンによるイオノトロピック型グルタミン酸受容体の発現調節
主査	筑波大学教授 医学博士 白石博康
副査	筑波大学教授 医学博士 工藤典雄
副査	筑波大学教授 理学博士 久野節二
副査	筑波大学講師 医学博士 大越教夫

論文の内容の要旨

(目的)

セロトニンは広範囲の神経機能や神経疾患に関わっており、高次神経機構に大きく影響を与えることが知られている。一方、グルタミン酸神経伝達は脳内神経伝達の主要な機構である。これまで、セロトニンがグルタミン酸神経伝達の受容体発現にどう影響しているかはほとんど明らかにされていなかった。そこで、本研究ではグルタミン酸による神経伝達の大部分を担うイオノトロピック型グルタミン酸受容体密度に対するセロトニンの影響を検討した。

(対象と方法)

セロトニンの合成阻害薬である p-chlorophenylalanine methyl ester (pCPA) 100mg/kg・体重を7日間腹腔内投与した成熟期の雄ラットから大脳皮質を摘出して、生理的食塩水を投与した対照群との比較実験を行った。脳内セロトニン濃度は摘出した脳の一部を用いて高速液体クロマトグラフィー電気化学検出法で測定して、薬物投与群で5%以下に減少していることを確認した。大脳皮質は、ホモジェナイズして膜標本とした。

はじめにイオノトロピック型グルタミン酸受容体の各型に特異的に結合する [³H] AMPA (AMPA型)、 [³H] カイニン酸 (カイニン酸型) および [³H] MK-801 (NMDA型) の放射性リガンドを用いて結合実験を行った。膜標本をそれぞれの放射性リガンドと一定環境のもとでインキュベーションし、遠心法あるいは濾過法により反応を停止させて膜標本を回収した。そして、回収された膜標本の放射活性を液体シンチレーターで測定した。複数の濃度の異なる放射性リガンドによる測定値をスキッチャードプロット法で解析して、それぞれの受容体について最大結合料と解離定数を得た。

次に、増加傾向のみられたAMPA型受容体に対して、サブタイプ特異抗体を用いた定量的イムノブロット実験を行った。蛋白量を一定にした膜標本をSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法で分離し、PVDF膜上に電気的に転写した。そして、AMPA型受容体のサブタイプであるGluR1, 2, 2/3 (交差抗体)、4それぞれの特異抗体を反応させて得られた免疫反応バンドの密度を密度計測計で測定した。また、GluR2受容体の免疫反応は5-HT_{2A}型受容体の阻害薬 ketanserin を投与した動物から得た膜標本についても免疫反応の比較を行った。

(結果)

受容体の発現量を示す最大結合量はAMPA型受容体で、薬物投与群で対照群に対して増加していた。また、カイン酸受容体では減少していた。しかし、NMDA型受容体については変化がみられなかった。また、各実験で受容体の親和性を示す解離定数に有意な変化はみられなかった。AMPA型受容体サブタイプに対しての定量的イムノブロット実験では、GluR1受容体の免疫反応は減少し、GluR2とGluR2/3は増加していた。GluR2とGluR2/3の増加が同程度であることから、GluR3の密度の変化はほとんどないことが示された。5-HT_{2A}型受容体の阻害薬ketanserinとpCPAを投与した動物の間でGluR2の免疫反応を比較したところ、同程度に増加していた。

(考察)

以上の結果から、脳内セロトニン濃度の減少が何らかの機構を介してAMPA型グルタミン酸受容体の密度を増加させ、カイン酸型受容体の密度を減少させることが明らかになった。また、AMPA型受容体の増加はGluR2サブタイプが主体となっていることが示された。GluR2サブタイプは、これまでにAMPA型受容体のカルシウムイオン透過性を阻害することが知られており、この結果から脳内セロトニン濃度の減少がAMPA型受容体を介する細胞内へのカルシウムイオン流入を変化させる可能性が示された。また、5-HT_{2A}型受容体の阻害薬とpCPAを投与した動物によるGluR2発現量の比較からこの減少が5-HT_{2A}型受容体を介していることが示された。

審 査 の 結 果 の 要 旨

興奮性神経伝達に役割を果たすイオノトロピック型グルタミン酸受容体に対するセロトニンの作用はほとんど検討されていない。本研究は、大脳皮質のセロトニンがHT_{2A}受容体を介して、Ca²⁺透過性を調節するGluR2 AMPA型グルタミン酸受容体の発現を調節していることを示した価値のある研究である。この結果は、神経系の可塑性に重要な役割を果たしているセロトニンの高次神経機能の調節機序を解明する上で重要な知見である。

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。