

| 第 4 領域 （公募班員）                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                           |        |                            |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|--------|----------------------------|
| 研究課題名                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 伝達物質受容体クロストークを仲介する分子機構の解明 |        |                            |
| 研究代表者名                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 小西 史朗                     | E-mail | skonishi@kph.bunri-u.ac.jp |
| 所属・職名                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 徳島文理大学 香川薬学部 病態生理学講座・教授   |        |                            |
| 研究分担者名                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 富永 貴志・栗生 俊彦               |        |                            |
| 分担者所属                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 徳島文理大学 香川薬学部 病態生理学講座      |        |                            |
| <p>これまで我々の研究グループは、小脳皮質の介在ニューロン-プルキンエ細胞間の抑制性 GABA 伝達が複数のシナプス機構で調節されていることを見出してきた。その一つとして、P2Y プリン受容体の活性化に伴いこの GABA シナプスは長期増強を受けることを報告した (Saitow et al., 2005a)。このシナプス機構を仲介するメッセンジャーの候補は ATP あるいは ADP であり、これらはグリア細胞から放出されるか他の神経伝達物質と共に放出されるものと推定される。また、この長期増強のユニークな特徴は、後シナプス機構によって誘発されることである。すなわち、ATP あるいは ADP はプルキンエ細胞の GABA<sub>A</sub> 受容体感受性を増加させることによって GABA シナプスの伝達効率を長期に増強させる。これまでモノアミン (Saitow et al., 2005b) やグルタミン酸が前シナプス機構によって GABA 放出を調節することは知られていたが (Rusakov et al., 2005; Satake et al., 2006)、P2Y 受容体で仲介される GABA シナプス制御は作用機構が明瞭に異なっている。そこで、P2Y 受容体の活性化はどのような機序で GABA シナプス伝達を後シナプス性に増強するかをさらに検討した。</p> <p>ラット (10～14 日齢) から小脳スライスを作製し、顕微鏡ステージ上の灌流槽に固定して人工脳脊髄液によって灌流した。IR-DIC 法によって観察しながらプルキンエ細胞から whole cell 記録を行った。ガラス電極によって小脳介在ニューロン (バスケット細胞) を刺激してプルキンエ細胞に誘発される抑制性後シナプス電流 (eIPSC) を記録した。ATP (100 M) を灌流投与すると、eIPSC の振幅は長期間にわたって増大した (132±4%, n=6) 。</p> <p>ATP の GABA<sub>A</sub> 受容体におよぼす効果を検討するため、peak-scaled non-stationary fluctuation analysis (PS-NSFA) 法を用いて eIPSC の誘発に関与する GABA<sub>A</sub> 受容体単一チャネル電流 (<i>i</i>) と受容体数 (<i>N</i>) を推定した。はじめに PS-NSFA 法の妥当性を検討するため、二つのコントロール実験を行った。まず、保持膜電位を変えて GABA<sub>A</sub> 受容体チャネル開口の駆動力を変動させると単一受容体チャネル電流の大きさのみが変化し、受容体数 <i>N</i> が変わらないことを確認した。次に、GABA<sub>A</sub> 受容体アンタゴニストの bicuculline によって受容体数を減らしたときに、PS-NSFA 法で <i>N</i> が減少することを確認した。これらの条件下で、次に ATP の GABA<sub>A</sub> 受容体機能に対する作用を調べた。ATP は GABA<sub>A</sub> 受容体単一チャネル電流 <i>i</i> を顕著に増加させた (160±9.9%, n=6)。一方、GABA<sub>A</sub> 受容体数 <i>N</i> は ATP 投与前後で有意に変化しなかった (94±6.1%)。これらの結果から、ATP はプルキンエ細胞の単一 GABA<sub>A</sub> 受容体チャネル電流の大きさを増加させることによって GABA シナプス伝達の長期増強を引き起こすことが示唆された。</p> <p>ATP 誘発 GABA シナプス長期増強を仲介する細胞内シグナル伝達系についても検討した。その結果、ATP は P2Y<sub>12</sub> 型プリン受容体を活性化して細胞内 cyclic AMP 生成を高め protein kinase A 依存性の蛋白リン酸化反応によって GABA<sub>A</sub> 受容体チャネル機能を長期的に増強する可能性の有望なことが示された。</p> <p>また、受容体クロストークの分子基盤を明らかにするための実験系を確立してきた。脊髄神経節ニューロンの単離培養系を用いて、mGluR1 グルタミン酸受容体および TRPV1 チャネルの連関を明らかにするための電気生理学的、分子生物学的実験を遂行している。</p> |                           |        |                            |