



Inhibitory modulation of long-term potentiation via the 5-HT[1A] receptor in slices of the rat hippocampal dentate gyrus

酒井, 規雄

(Degree)

博士（医学）

(Date of Degree)

1993-03-31

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲1159

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1001159>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



氏名・(本籍)	さか　い　のり　お 酒井規雄	(兵庫県)
博士の専攻 分野の名称	博士(医学)	
学位記番号	博い第833号	
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当	
学位授与の日付	平成5年3月31日	
学位論文題目	Inhibitory modulation of long-term potentiation via the 5-HT _{1A} receptor in slices of the rat hippocampal dentate gyrus. ラット海馬歯状回における長期増強の5-HT _{1A} 受容体を介する抑制的調節	
審査委員	主査教授　田中千賀子 教授　中井久夫　教授　岡田安弘	

論文内容の要旨

目的

セロトニン1A受容体(5-HT_{1A}受容体)作動薬は、抗不安薬、抗鬱薬としての臨床応用が期待されている一方、選択的5-HT_{1A}作動薬の8-hydroxy-(2-N,N-diproopylamino)-tetraline(8-OH-DPAT)は、ラットに投与すると、記憶障害を起こすことも報告されている。

海馬における長期増強(long-term potentiation, LTP)は、学習、記憶の形成に関与していると考えられている。海馬は縫線核のセロトニンニューロンの投射をうけており、特に、歯状回では5-HT_{1A}受容体が多く存在していることが知られている。今回、我々は、貫通線維-歯状回系のLTPに対する5-HT_{1A}受容体を介する調節について5-HT_{1A}受容体作動薬の8-OH-DPATと拮抗薬である1-(2-methoxyphenyl)-4-[4-(2-phthalimido)butyl]piperazine(NAN-190)を用いて調べた。

また、ノルエピネフリン(NE)やイソプロテレノールの投与は β 受容体を介し、同部にLTP様の増強を起こすことが知られている。我々は、イソプロテレノールにより誘発される長期増強様現象(Isoproterenol-induced long-lasting potentiation, ILLP)に対する8-OH-DPATの効果も同時に調べた。

方法

雄のウィスター系ラット(100-200 g)の海馬より得たスライス標本(厚さ約400 μ m)を95%O₂

と 5 %CO₂ で飽和させた 32°C の人工脳脊髄液 (NaCl, 117mM ; KCl, 4.5mM ; MgSO₄, 1.3mM ; NaH₂PO₄, 0.92mM ; CaCl₂, 2.5mM ; NaHCO₃, 26.2mM ; glucose, 11mM) 中で 1 時間インキュベートした後、記録槽に移した。記録槽には 32°C から 34°C の人工脳脊髄液を 1 分間約 4 – 6 ml の速度で灌流した。刺激電極は分子層の貫通線維に刺入し、その刺激（持続時間 0.1msec, 刺激強度 4 – 10mV, 刺激頻度 0.1Hz）によって誘発される population spike (PS) を歯状回の顆粒細胞層から記録した。5 分毎に 6 回の刺激により誘発される PS を加算平均し、PS の振幅を計測し、時間経過を追った。

LTP は 4 個の安定した反応が得られた後に、同じ刺激強度で 100Hz 2 秒間の高頻度刺激を与えることにより導出した。薬物 (8-OH-DPAT, NAN-190) は、高頻度刺激 20 分前から 5 分後の 25 分間投与した。高頻度刺激 60 分後の PS の振幅の大きさにより、薬物の LTP に対する効果を判定した。

ILLP は、イソプロテノール 10 μM を 30 分間投与することにより導出した。また、イソプロテノールと共に 8-OH-DPAT を投与し、ILLP に対する影響をみた。薬物投与中止 30 分後の PS の振幅の大きさにより、8-OH-DPAT の ILLP に対する効果を判定した。

結果

- (1) 8-OH-DPAT を 15 分間投与したところ、低頻度刺激によって誘発される海馬スライスの PS 振幅は、濃度依存的に抑制された。
- (2) NAN-190 を 8-OH-DPAT と一緒に投与することにより(1)でみられた 8-OH-DPAT の効果は、有意に消失した。このことより、NAN-190 は生理的に 5-HT_{1A} 受容体の阻害剤として働いているものと考えられる。
- (3) 8-OH-DPAT を高頻度刺激前後に投与したところ、LTP はわずかに抑制されたが、有意差は認められなかった。
- (4) NAN-190 を高頻度刺激前後に投与したところ、有意な LTP に対する増強が濃度依存的にみられた。また、NAN-190 による LTP の増強作用は、8-OH-DPAT を NAN-190 と一緒に投与することにより消失した。
- (5) 8-OH-DPAT の投与は、濃度依存的に ILLP の発現を有意に抑制した。

考察

5-HT_{1A} 受容体の刺激は、K⁺ チャンネルを開口させ、細胞を過分極させることが知られている。今回、我々の行なった実験では、5-HT_{1A} 受容体作動薬である 8-OH-DPAT によって PS 振幅は抑制されたが、これは、過分極に由来するものと考えられた。

一方、8-OH-DPAT の投与は、貫通線維 – 歯状回系の LTP に対し影響を与えたかった。これは、高頻度刺激により、充分な量の内在性セロトニンが遊離されるので、8-OH-DPAT の投与で更に

5-HT_{1A}受容体を刺激しても、LTPに対する影響は出なかったものと考えられる。一方、5-HT_{1A}受容体拮抗薬であるNAN-190は、有意にLTPを増強した。このことは、セロトニンは、5-HT_{1A}受容体を介しLTPに対し抑制的に作用し、NAN-190はこの抑制作用に拮抗することにより、この系のLTPを増強したものと考えられた。

ノルエピネフリン、イソプロテレノールは、 β 受容体を介して貫通線維-歯状回系におけるLTPを増強し、また、それ自身、LTP様の増強を起こすことが知られている。 β 受容体の刺激は、細胞内cAMP濃度を上昇させ、その結果、cAMP依存性のK⁺チャンネルが閉塞し、膜電位が上昇し、NMDA受容体のMgイオンによる閉塞が解除され、NMDA受容体を介するCaイオン流入が増大することが報告されている。 β 受容体を介するLTPの増強及びILLPの発現には、このCaイオン流入の増大が関与しているものと思われる。

一方、5-HT_{1A}受容体はGi-adenylate cyclase系と共に役し、5-HT_{1A}受容体の刺激はcAMP濃度を減少させ、K⁺チャンネルを開口させ、過分極を起こすことが知られている。5-HT_{1A}受容体作動薬である8-OH-DPATによりILLPの発現が抑制されたことから、5-HT_{1A}受容体を介するLTP及びILLPの抑制は、adenylate cyclaseの抑制によるものと考えられる。

以上の結果から、セロトニンは5-HT_{1A}受容体を介して、海馬歯状回顆粒細胞を過分極することにより、低頻度刺激による誘発電位を抑制し、cAMP細胞内情報伝達系を抑制することにより、高頻度刺激によって誘発されるLTPを抑制することが示唆された。

論文審査の結果の要旨

海馬の長期増強(long-term potentiation, LTP)は、神経系の可塑性を示す代表例で、学習、記憶の形成に関与していると考えられている。LTPの導出には、グルタミン酸神経系の関与が重要であるが、カテコラミン神経系などの他の神経系もLTPに対し種々の調節を行っている。特に、 β 受容体の刺激は、Gs-adenylate cyclase系と共に役し、細胞内cAMP濃度を上昇させることにより、LTPの増強及びLTP様の長期増強現象を発現させることが知られている。一方、セロトニン1A受容体(5-HT_{1A}受容体)はGi-adenylate cyclase系と共に役し、cAMP濃度を減少させ、海馬神経細胞を過分極させていることが知られている。本研究において学位申請者は、このセロトニンに着目し、海馬の貫通線維-歯状回系のLTPに対する5-HT_{1A}受容体を介する調節について、5-HT_{1A}受容体作動薬の8-OH-DPATと拮抗薬であるNAN-190を用いて調べた。また、 β 受容体作動薬であるイソプロテレノールにより誘発される長期増強様現象(Isoproterenol-induced long-lasting potentiation, ILLP)に対する8-OH-DPATの効果も同時に調べた。

実験は、雄のウィスター系ラットより得た海馬スライスを用い、貫通線維を刺激した際に得られるpopulation spike(PS)を歯状回顆粒細胞層から記録することにより行った。LTPは、同部を高頻度刺激することにより導出した。8-OH-DPATは、低頻度刺激によって誘発されるPS振幅を抑制し、NAN-190は、この抑制作用に拮抗した。このことより、NAN-190は生理的に5-HT_{1A}受容体の阻害

剤として働いているものと考えられた。8-OH-DPAT は、LTP に対し影響を与えたかったが、NAN-190 は、有意に LTP を増強した。NAN-190 による LTP の増強作用は、8-OH-DPAT により拮抗された。また、8-OH-DPAT は、ILP の発現を有意に抑制した。

以上の結果から、セロトニンは 5-HT_{1A} 受容体を介して、海馬歯状回顆粒細胞を過分極することにより、低頻度刺激による誘発電位を抑制し、cAMP 細胞内情報伝達系を抑制することにより、高頻度刺激によって誘発される LTP を抑制することが示唆された。

本研究は、カテコラミンによる LTP の調節について、従来ほとんど知られていなかったセロトニン 1A 受容体を介する調節について明らかにしたものであり、LTP の調節機構について重要な知見を得たものとして、価値ある業績であると考えられる。よって、本研究者は、博士（医学）の学位を得る資格があると認める。