



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)	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-dipropylamino)-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℃ 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℃ から 34℃ 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、イソプロテレノール 10 μ M を 30 分間投与することにより導出した。また、イソプロテレノールと共に 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 と同時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 と共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 に対し影響を与えなかった。これは、高頻度刺激により、十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¹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 系と共役し、cAMP 濃度を減少させ、海馬神経細胞を過分極させ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 に対し影響を与えなかったが、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、ILLP 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。