

ラット延髄孤束核における興奮性シナプス伝達に対するセロトニンの効果

092A11 竹中 亮介

神経薬理学講座

【目的】

孤束核 (nucleus tractus solitarii; NTS) は脳幹背内側部に位置し、吻尾方向に長く伸びる領域である。NTSは迷走神経や舌咽神経などの感覚性求心性線維の入力を受ける一次中継核として、心血管系・呼吸器系及び消化器系機能を制御する^{1), 2)}。これら感覚性求心性線維からNTS二次中継ニューロンへの伝達は、主にグルタミン酸がAMPA受容体を介して行っている³⁾。また、縫線核から投射されるセロトニン (5-HT) 神経が、この興奮性シグナル伝達を修飾している⁴⁾ が、その作用の詳細は解明されていない。本研究では、NTS二次中継ニューロンにおける末梢入力誘発性興奮性シナプス後電流 (evoked excitatory postsynaptic currents; eEPSCs) に対する5-HTの作用、及びNTS内局所回路起源の自発性興奮性シナプス後電流 (spontaneous excitatory postsynaptic currents; sEPSCs) に対する5-HTの作用を検討し、NTS興奮性シナプス伝達に対する5-HTの修飾作用の解明を試みた。

【方法】

1、脳幹スライスの作成

Wister系雄性ラット (3~5週齢: 体重50~100 g) を深麻酔下に断頭し、脳幹部を採取した。マイクロスライスカッターを用いてNTS領域を含む脳幹スライス (厚さ400 μm) を作成した。

2、whole-cell patch clamp法

作成した脳幹スライスからNTS二次中継ニューロンをIR-DIC法を用いて視覚的に同定し、whole-cell patch clamp法により、保持電位-60 mV下で膜電流を記録した。eEPSCsは孤束 (tractus solitarius; TS) を電気刺激 (0.1 ms、0.1 Hz、5~30 V) することにより発生させた。miniature EPSCs (mEPSCs) は、TTX (1.0 μM) を溶解した人工脳脊髄液の灌流下に記録した。TSをduble-pulse (interval; 30~50 ms) で電気刺激して1st eEPSCs と2nd eEPSCsを発生させ、それらの比 (2nd eEPSCs/1st eEPSCs) で表されるPaired-pulse ratio (PPR) を算出した。AMPA誘発性電流は、AMPA (100 μM) により発生

させた。

3、使用薬物

以下の薬物を人工脳脊髄液に溶解し、灌流した。

5-HT (1.0-10.0 μM)、8-OH-DPAD (5-HT_{1A} agonist)、CGS-12066A (5-HT_{1B} agonist)、α-Me-5-HT (5-HT₂ agonist)、2-Me-5-HT (5-HT₃ agonist)、cisapride (5-HT₄ agonist)、ketanserin (5-HT₂ antagonist) ondansetron (5-HT₃ antagonist)、AMPA、TTX (Na channel bloker)

4、統計解析

データは平均値±S.E.Mで表した。有意差検定にはANOVA 及び Bonferroni 補正多重 t-検定、及びKolmogorov-Smirnov検定 (危険率p<0.05) を用いた。

【結果】

1、eEPSCsに対する5-HTの作用

eEPSCsの平均振幅は179.7 ± 6.6 pA (n=73) であった。5-HTは基礎電流を変化させずにeEPSCsの振幅を濃度依存的に減少させた。α-Me-5-HTは5-HTと同様の作用を示したが、8-OH-DPAD、CGS-12066A、2-Me-5-HT、cisaprideはeEPSCsに対して影響を及ぼさなかった。また、5-HT及びα-Me-5-HTのeEPSCsの抑制作用はketanserinによって消失した。また、5-HT 及びα-Me-5-HTはPPRを上昇させたが、外から適用したAMPA誘発性電流を変化させなかった。

2、sEPSCsに対する5-HTの作用

sEPSCsの平均発生頻度は2.4 ± 0.2 events/s (n=60) であり、平均振幅は20.5 ± 0.7 pA (n=60) であった。5-HTはsEPSCsの振幅を変化させなかったが、濃度依存的に発生頻度を増加させた。2-Me-5-HTは5-HTと同様の作用を示したが、8-OH-DPAD、CGS-12066A、α-Me-5-HT、cisaprideはsEPSCs に対して影響を及ぼさなかった。また、5-HTによる sEPSCsの増強作用はondansetronによって消失した。また、5-HT 及び2-Me-5-HT はmEPSCsの振幅を変化させず、発生頻度を増加させた。

【考察】

本研究より、(1) 5-HTはNTS二次中継ニューロンへの求心線維由来興奮性入力に対して、シナプス前性に5-HT₂受容体を介して、グルタミン酸の放出量を抑制すること、(2) 延髄局所興奮性入力に対して、シナプス前性に5-HT₃受容体を介して、グルタミン酸の放出量を増加させることが明らかになった。これらの結果は、縫線核から投射される5-HT神経が、感覚性求心線維入力に対して抑制性に、延髄局所回路入力に対して興奮性に修飾することを示している。これより5-HTは心血管系・呼吸器系及び消化器系機能をNTSレベルで調節していることが示唆された。

【文献】

- 1) J. Physiol., **381**, 551-573 (1986),
- 2) J. Physiol., **474**, 1-20 (1994),
- 3) A. J. Physiol., **259**, H1307-H1311 (1990),
- 4) Brain Res., **589**, 62-68 (1992)