

Title	Menthol receptors in cold-sensitive neurons(Abstract_要旨)
Author(s)	Okazawa, Makoto
Citation	Kyoto University (京都大学)
Issue Date	2001-05-23
URL	http://hdl.handle.net/2433/150218
Right	
Type	Thesis or Dissertation
Textversion	none

氏名	おか ざわ まこと 岡 澤 慎
学位(専攻分野)	博士 (情報学)
学位記番号	情博第42号
学位授与の日付	平成13年5月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	情報学研究科知能情報学専攻
学位論文題目	Menthol receptors in cold-sensitive neurons (冷受容ニューロンはメントールにも反応する)
論文調査委員	(主査) 教授 小林茂夫 教授 乾 敏郎 教授 佐藤雅彦

論文内容の要旨

感覚細胞は普通特異的な種類の刺激にのみ反応する。例えば、視細胞は光を、聴細胞は音にのみ反応する。一方、体性感覚細胞はしばしば複数の刺激に応答する(バイモダル受容・ポリモダル受容)。皮膚の冷線維は温度低下に反応しインパルスを生じ、それが脳に伝わって冷感を引き起こす。さらに、冷線維は温度が変化しないにも関わらずメントールに反応しインパルスを発する。この際、メントールが誘発したインパルスは温度の情報を含まないが、やはり冷感が引き起こされる。何故か? 申請者はバイモダル受容の解析が感覚系の動作原理、ひいては脳の機能の解明に重要と考え研究を行っている。本研究ではバイモダル受容とそれが引き起こす感覚の内、第一段階として、バイモダル受容ニューロンの受容機構の解明を目指した。問題点は、メントールが冷受容機構を活性化するかどうかである。冷却が誘発するイオン機構は明らかになりつつあるが、メントールが誘発するイオン機構はわかっていない。そこでメントールが冷感受性ニューロンに引き起こすイオン機構を解析した。

第一章では、メントールの受容機構の効果的な解析方法を開発した。体性感覚細胞はそれ自身がニューロンである。刺激を受容すると神経終末はインパルスを発する。イオン機構の解析はパッチクランプ法を行う必要がある。しかし、神経終末は微細で、パッチ電極を密着できない。体性感覚細胞の細胞体は後根神経節にある。パッチ電極を密着するにも十分大きい。いくつかの感覚受容体は神経終末だけでなく細胞体にも発現している。そこで本研究ではメントール受容体が細胞体にも存在すると仮定した。そして自由神経終末の代わりに培養した後根神経節細胞を用いてメントール受容体があるかどうか検討した。まず、多くの細胞の細胞内カルシウムイオン濃度($[Ca^{2+}]_i$)を一度に測定できる Fura-2 顕微測光法を用いメントール受容体を持つ細胞を探した。その結果、メントールは、一部のニューロンに $[Ca^{2+}]_i$ 上昇を誘発した。さらに、 $[Ca^{2+}]_i$ 反応はメントール濃度に依存して大きくなった。最大の半分の効果を引き起こすメントールの濃度(EC_{50})は $38\mu M$ だった。すなわち、メントールに特異的に反応する受容体が存在することがわかった。しかし、 $[Ca^{2+}]_i$ 上昇があったとしても細胞が興奮するかどうかはわからない。それを確かめるため、パッチクランプ法で膜電位におよぼすメントールの影響を解析した。ホールセル電流固定下でメントールは脱分極(受容器電位)と活動電位を誘発した。一方、 $[Ca^{2+}]_i$ 上昇のない細胞には作用がなかった。以上のことから、一部の感覚神経にメントール受容体が存在し、メントールはメントール受容体を介して細胞を興奮させることがわかった。このようにメントール受容体を解析する効果的な方法を開発した。

第二章では、培養 DRG 細胞を用いたこの実験系で冷却に反応するニューロン(冷感受性ニューロン)とメントールに反応するニューロンの関係を調べた。その結果、冷感受性ニューロンのほとんど(97%)がメントールにも反応するバイモダル受容ニューロンだとわかった。冷却あるいはメントールのどちらかにだけ反応するものはほとんど存在しなかった。次に、冷却が活性化す冷チャンネルをメントールが活性化するかどうかを検討した。ホールセル電位固定法($-60mV$)ではメントールは内向き電流を誘発した。電流-電圧関係では逆転電位がほぼ $0mV$ であることから、メントールは非選択的陽イオンチャンネルを活性化するとわかった。この性質は冷チャンネルと同じである。よって、ホールセルモードでは、メントール

が冷チャネルを活性化するのかわからなかった。そこで、メントールが活性化するチャネルの性質を単一チャネルレベルで調べた。細胞から膜片を切離した、インサイドアウト法では、メントールが、コンダクタンスの異なる大小2種類(36.1pS, 100pS, +60mV)の非選択的陽イオンチャネルを活性化した。メントールが活性化するチャネルの単一チャネルコンダクタンスは冷チャネルと異なっていた。

結論

メントールは、冷チャネルと異なるチャネルを活性化した。これが、温度が変化しないにもかかわらずメントールでインパルスを生じるバイモダル受容の実体だとわかった。

論文審査の結果の要旨

冷却でインパルスを発する冷線維は、温度が変わらなくてもメントールにも反応する(バイモダル受容)。つまり、メントールで生じるインパルスは温度の情報を含まない。にもかかわらず、冷線維に生じたインパルスは脳に冷感を引き起こす。バイモダル受容の解析が感覚系の動作原理、ひいては脳の機能の解明に重要と申請者は考え研究を行っている。そして、本論文では信号を送り出す側のメカニズムを研究している。即ち、後根神経節細胞の冷感受性ニューロンのバイモダル受容メカニズムを解析している。一章では、多数のニューロンの中から、メントールに反応し細胞内カルシウムイオン濃度($[Ca^{2+}]_i$)が上昇する細胞を見つけた。さらに、 $[Ca^{2+}]_i$ 上昇した細胞のみがインパルスを生じた。すなわち、興奮を引き起こすメントール受容体が後根神経節細胞にも存在することを十分なサンプル数に基づいて述べている。この結果は国際誌 *Neuroreport* に掲載された。二章では、まず、後根神経節細胞の冷受容ニューロンはほとんどがメントールにも反応するバイモダル受容ニューロンであることを示した。この点は、以前の *in vivo* における細胞外記録の実験結果と一致する。次に、メントールで活性化するチャネルの解析を行っている。その結果、冷却が活性化するチャネルとは異なるチャネルをメントールは活性化した。即ち、バイモダル受容の実体を明らかにした。今後、冷感が生じる分子基盤を解明する仕事にこの研究が発展することが望まれる。

公聴会の発表では申請者は博士論文の内容を順序良く述べた。必要な時には模式図を用いて説明した。その結果、生物の知識がなくても理解できる説明であった。実験手法や結果に対する質問には、的確に答えていた。全体としては、予備審査の結果を踏まえた改善点が見られ、洗練された発表として評価できる。

よって、本論文は博士(情報学)の学位論文として価値あるものと認める。また、平成13年3月15日実施した論文内容とそれに関連した試問の結果合格と認めた。