



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Intracellular signaling for the effects of neuropeptides on the excitability of type II neurons in the bed nucleus of the stria terminalis [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	兼子, 朋之
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(生命科学)
Dissertation Number	甲第14665号
Issue Date	2021-09-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/83530
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Tomoyuki_Kaneko_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学 位 論 文 内 容 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博士 (生命科学) 氏 名 兼 子 朋 之

学 位 論 文 題 名

Intracellular signaling for the effects of neuropeptides on the excitability of type II neurons in the bed nucleus of the stria terminalis

(分界条床核 II 型神経細胞の興奮性に対する神経ペプチドの効果と細胞内情報伝達)

種々のストレス因子により惹起される不安、嫌悪、抑うつ、恐怖などの負情動は、生体への警告系として不可欠な機能を果たしている。一方で、それらのストレス因子への長期にわたる曝露は、精神疾患発症などの有害な結果を招く可能性があり、負情動が惹起されるメカニズムを解明し、精神疾患の予防・治療法の開発につなげることは喫緊の課題となっている。

分界条床核 (bed nucleus of the stria terminalis; BNST) は、前脳基底部に位置し、ストレス応答や不安、嫌悪、抑うつ、恐怖などの負情動生成に関与していることが知られている。BNST の背外側領域 (dorsolateral BNST; dlBNST) には、コルチコトロピン放出因子 (corticotropin releasing factor; CRF) やニューロテンシン (neurotensin; NTS) などの、多くの神経ペプチドが局在し、種々のストレスに応答して遊離する可能性が示唆されている。当研究室では、これまでに、CRF が dlBNST において II 型神経細胞と呼ばれるタイプの神経細胞を特異的に脱分極させることが負情動生成に重要である可能性を報告している。一方、NTS も BNST 内神経細胞に作用することで不安関連行動に関与することが別グループから報告されたが、dlBNST 内 II 型神経細胞に着目して NTS の作用を CRF の作用と比較検討した電気生理学的研究は未だない。本研究では、dlBNST での II 型神経細胞の興奮性に対するこれら神経ペプチドの作用と関与する細胞内情報伝達について、脳スライスパッチクランプ法による電気生理学的解析手法を用いた検討を行った。

第 1 章では、CRF による dlBNST 内 II 型神経細胞の脱分極作用に関与する細胞内情報伝達を検討した。既報のとおり、CRF 処置により II 型神経細胞の脱分極が観察された。脱分極作用にはチャネルコンダクタンス減少が関与する細胞群とチャネルコンダクタンス増加が関与する細胞群が存在することについても既報どおりの結果を得た。CRF の脱分極作用にプロテインキナーゼ A (PKA) 活性化が関与しているかを調べるために、PKA 阻害薬である KT5720 あるいは Rp-cAMPS を記録電極内溶液に加えた。これら PKA 阻害薬の存在下では、CRF による脱分極作用は抑制された。アデニル酸シクラーゼ活性化薬である forskolin の処置により II 型神経細胞の脱分極が観察された。この脱分極作用にもチャネルコンダクタンス減少とチャネルコンダクタンス増加が関与する細胞群が観察され、forskolin は CRF と類似した作用を示した。Forskolin を処置し脱分極が生じた II 型神経細胞に CRF を処置した場合には、CRF による追加的な脱分極作用は認められなかった。CRF の脱分極作用にフォスホオリパーゼ C (PLC) 活性化が関与しているかを調べるために、PLC 阻害薬である U73122 を記録電極内溶液に加えた。U73122 は CRF の脱分極作用に影響を与えなかった。

第 2 章では、dlBNST 内 II 型神経細胞に対する NTS の作用と、それに関与する細胞内情報伝達を検討した。NTS 処置により II 型神経細胞の脱分極作用が観察された。脱分極作用にはチャネルコンダクタンス減少が関与していることが認められた。NTS の脱分極作用に PLC 活性化が関与しているかを調べ

るために、PLC 阻害薬である U73122 を記録電極内溶液に加えた。U73122 存在下では、NTS による脱分極作用は抑制された。NTS の脱分極作用にプロテインキナーゼ C (PKC) の活性化が関与しているかを調べるために、PKC 阻害薬である calphostin C を記録電極内溶液に加えた。calphostin C は、NTS の脱分極作用に影響を与えなかった。NTS の作用におけるカルシウム/カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼ II (CaMKII) の関与を調べるために、CaMKII 阻害薬である KN93 を記録電極内溶液に加えた。KN93 の存在下においても、NTS は II 型神経細胞を脱分極させた。しかしながら、NTS 単独投与の場合とは異なり KN93 存在下では、脱分極作用にコンダクタンス減少が関与する細胞群とコンダクタンス増加が関与する細胞群が観察された。これらの細胞群は CRF 処置実験の際に観察された細胞群である可能性が示唆された。NTS の作用に PKA 活性化が関与しているかどうかを調べるために、PKA 阻害薬である Rp-cAMPS を記録電極内溶液に加えた。Rp-cAMPS の存在下では、NTS は II 型神経細胞に過分極作用を示した。NTS の作用が、PKA 活性化による脱分極作用と CaMKII 活性化による過分極作用の組み合わせにより引き起こされている可能性を検討するために、PKA 阻害薬である Rp-cAMPS と CaMKII 阻害薬である KN93 を同時に記録電極内溶液に加えたところ、脱分極作用と過分極作用のいずれも観察されなかった。

本研究から、dBNST 内 II 型神経細胞に対して、(1) CRF が AC-cAMP-PKA 経路を活性化させることで脱分極作用を示すこと、(2) NTS は PLC-CaMKII 経路活性化により過分極を、PLC-AC-cAMP-PKA 経路活性化により脱分極を引き起こし、正味の効果として脱分極作用を示すことが示唆された。CRF と NTS がともに II 型神経細胞に対する脱分極作用を有すること、これらの神経ペプチドが不安や嫌悪などの負情動を惹起することが報告されていることから、II 型神経細胞の活性化が負情動生成に関与することが考えられる。また、NTS 受容体の下流には脱分極を引き起こす情報伝達と過分極を引き起こす情報伝達が存在することから、PLC-AC-cAMP-PKA 系と PLC-CaMKII 系のバランスの変化が負情動生成・制御に関与する可能性が考えられる。不安、嫌悪、抑うつ、恐怖などの負情動生成に関与すると考えられる dBNST 内 II 型神経細胞に対する神経ペプチド CRF と NTS の作用と関与する細胞内情報伝達を明らかにした本研究成果は、不安障害やうつ病などの精神疾患の神経機構解明や治療薬創製に貢献することが期待できる。