



Taurine depletion during fetal and postnatal development blunts firing responses of neocortical layer II/III pyramidal neurons

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2023-03-29 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 細井, 泰志 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/00004332

博士（医学） 細井 泰志

論文題目

Taurine depletion during fetal and postnatal development blunts firing responses of neocortical layer II/III pyramidal neurons

（胎児期・生後発達期のタウリン枯渇は脳新皮質 II/III 層錐体神経細胞の発火応答を鈍麻させる）

論文の内容の要旨

〔はじめに〕

胎生期、出生後の中枢神経系にはタウリンが豊富に存在している。幼若期のタウリン合成能は低く、母体で合成されたタウリンが胎盤や母乳を介して子へと供給される。細胞内へのタウリンの取り込みは主にタウリントランスポーター（TauT: SLC6A6）で行われる。胎生期ラットの発達において、脳新皮質の錐体神経前駆細胞内に取り込まれたタウリンは、with-no-lysine タンパク質キナーゼ系のリン酸化を介して、神経特異的 2 型 K^+ -Cl⁻ 共輸送体を抑制する。これにより細胞内の Cl⁻ 濃度が高く維持され、 γ -aminobutyric acid (GABA)_A 受容体は Cl⁻ 流出による興奮性の反応を示す。錐体神経前駆細胞上に発現している GABA_A 受容体を介した興奮性の活動により、胎仔の前駆細胞の分化が促進され、前駆細胞の放射状移動が停止することが知られている。また、タウリンは細胞外においては、GABA_A 受容体およびグリシン受容体の部分的アゴニストとしても作用する。母体にタウリン合成阻害薬である D-cysteinesulfinic acid を投与しタウリンを枯渇させると、胚発生初期の放射状グリアからの前駆細胞への分化のタイミングが遅延され、一方で皮質板細胞の放射状移動は加速されることから、タウリンが前駆細胞や皮質板細胞上に発現している GABA_A 受容体に作用し、分化および放射状移動を制御していることが判明している。しかし、最終的な前駆細胞の割合や配置は、タウリン枯渇の影響を受けず、胎生期のタウリン枯渇が分化・移動に及ぼした作用が、生後の錐体神経細胞にどのように影響しているかは不明である。そこで本研究では、発達期におけるタウリン枯渇が分化後の錐体神経細胞に与える影響を調べるために、TauT ノックアウトマウスを用いて、脳新皮質一次体性感覚野 II/III 層の錐体神経細胞の受動的膜特性と発火特性を検討した。

〔材料ならびに方法〕

実験動物にはヘテロ変異型 TauT ノックアウトマウス (HT) の交配で得られた、野生型 (WT)、HT、ホモ変異型 TauT ノックアウトマウス (Homo) を使用した。生後 19 日から 23 日齢の各遺伝子型マウスから、厚さ 300 μ m の急性脳スライス切片を作成した。各遺伝子型マウスにつき 6 匹を用いて 23-25 個の一次体性感覚野 II/III 層の錐体神経細胞より、ホールセルパッチクランプ法にて受動的膜特性と活動電位を記録し、電気生理学的解析を行った。また、WT と Homo マウスから体性感覚野を含む脳領域領域を採取し、ウェスタンブロット法を用いて、電位依存性 K^+ チャネルである Kv2.1、 Ca^{2+} 感受性 K^+ チャネルである SK2 のタン

パク質発現量を比較した。

本研究は組換え DNA 実験安全委員会（承認番号：2-53）、動物実験委員会（承認番号：2019035）の承認を得て行った。

〔結果〕

膜容量、静止膜電位、細胞膜の入力抵抗については、WT・HT・Homo の三型間で有意差はなかった。2 ミリ秒の短時間の電流刺激入力で得られた単発の活動電位発火についての解析では、WT と比較し HT と Homo で活動電位の発火閾値電位と再分極速度が有意に低下していた。活動電位の半値幅は、WT に比べ Homo で有意に大きかった。後過分極電位は WT では 3 / 24 細胞、HT では 8 / 23 細胞、Homo では 8 / 25 細胞で認め、HT と Homo で多い傾向があった。1 秒間の持続電流刺激入力により誘発された連続発火活動についての解析では、単発の活動電位を誘発しうる最小入力電流（基電流）は三型間で差はなかったが、基電流の 2 倍の強さの持続電流刺激を入力した時に、WT に比べ HT と Homo の連続発火頻度が有意に少なく、発火間欠期の膜電位レベルの低下を伴っていた。また、HT と Homo では連続発火活動に伴う活動電位の立ち上がり速度と再分極速度及び振幅の減少程度が WT より小さかった。連続発火活動中の活動電位間隔の逆数より求めた瞬時周波数が漸減する速度は、Homo で有意に大きかった。持続電流刺激入力を基電流の 4-5 倍に増強すると、HT と Homo は WT より連続発火活動が持続しやすく、発火間欠期の膜電位レベルは有意に低かった。以上より、HT と Homo では活動電位再分極後期の K^+ 電流が WT より増加していることが示唆された。そこで、体性感覚皮質を含む新皮質における Kv2.1 および SK2 の発現量を比較したが、WT と Homo 間で有意差を認めなかった。

〔考察〕

WT に比べ HT と Homo で 2 倍基電流入力中の連続発火頻度が低下し、4 倍以上の基電流入力中に連続発火活動が長く維持されたのは、発火間欠期の K^+ 電流増加により膜電位レベルが低下し、活動電位のピークで起こる電位依存性 Na^+ チャネルの不活性化からの回復が促進されたためと考えられる。錐体神経細胞の発火間欠期に開く Kv2.1 と SK2 の発現量に差がなかったことは、これらのチャネルのリン酸化状態の違いによる電位依存性の変化や、他種の K^+ チャネル発現増加の可能性を示唆する。本研究結果は、発達期のタウリン枯渇により体性感覚応答が鈍麻することを示している。これは発達期の脳におけるタウリン作用が、体性感覚応答の鋭敏化に必要であることを意味する。また、最近申請者らのグループは、TauT ノックアウトマウスで不安様行動が減少し、潜在的なリスクに対する判断能力が低下することを行動実験により見出して報告した。このことから、発達期のタウリン枯渇が、体性感覚野以外の皮質領域でも錐体神経細胞発火頻度の減少をもたらしている可能性がある。

〔結論〕

本研究から、発達期におけるタウリン枯渇により、外部刺激に対する脳の体性感覚皮質 II/III 層錐体神経細胞の発火応答が鈍麻することが示された。従って、タウリンは発達期の脳において正常な体性感覚の発達に必須である可能性

が示唆された。