

令和 3 年 6 月 11 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K16452

研究課題名（和文）シナプス前グリシン受容体の機能性の証明

研究課題名（英文）proof of presynaptic glycine receptor function

研究代表者

住江 誠（Sumie, Makoto）

九州大学・医学研究院・助教

研究者番号：60792918

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 1,900,000 円

研究成果の概要（和文）：脊髄後角は痛みの伝導路での1次中継地点であり、シナプスと呼ばれる神経と神経との間で、伝達物質を放出することによるシグナル伝達を行っている。この伝達物質の放出と受容を調節することで痛覚の調節を行っている。本研究では抑制性の伝達物質であるグリシンの受容体が、伝達物質を放出するシナプス前神経細胞にも存在し、そこにグリシンが結合することでシナプス前神経細胞からの伝達物質の放出を抑制することが明らかとなった。伝達物質の放出抑制は神経活動の抑制を意味するため、痛みをコントロールするための新しい標的部位となる可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで組織学的にはシナプス前神経細胞にグリシン受容体が存在していることが報告されていたものの、その機能については報告されていなかった。今回電気生理学的手法を用いてその機能を明らかにすることができた。抑制性伝達物質のグリシンは、シナプス後グリシン受容体だけでなく、シナプス前グリシン受容体にも結合し、伝達物質の放出を抑制することで痛み刺激を抑制することが明らかとなった。このことはシナプス前グリシン受容体が、痛みをコントロールするための新しい治療薬としての標的部位となる可能性を示唆している。

研究成果の概要（英文）：The spinal dorsal horn is the primary point in the pain conduction pathway and transmits signals by releasing transmitters between neurons, that is called synapse. The pain perception is regulated by modulating its release and reception. In this study, we found that receptors for glycine, an inhibitory transmitter, are present in presynaptic neurons. The Glycine bind presynaptic glycine receptors and inhibits the release of the transmitter from presynaptic neurons. This finding means suppressing nociceptive neural activity. This presynaptic glycine receptor could be a new target site for pain control.

研究分野：麻酔蘇生学

キーワード：グリシン シナプス前受容体

### 1. 研究開始当初の背景

痛み刺激は、末梢の侵害受容器から脊髄後角でシナプス接続を行い、外側脊髄視床路を上行して視床で再度シナプス接続を行い、大脳皮質に到達する。このうちの脊髄後角は、ゲートコントロールセオリーに代表されるように、以前より痛みの調節が行われている場所と考えられていた。脊髄後角のシナプスでは、神経活動を亢進させる興奮性伝達物質と、抑制させる抑制性伝達物質によって調節されている。なかでも抑制性伝達物質の一つであるグリシンはシナプス後のグリシン受容体に作用し、活動電位を抑制する。一部の哺乳動物の神経終末にはグリシン受容体が組織学的に存在することが報告されていたが、その機能性については報告されていなかった。

### 2. 研究の目的

これまで明らかになっていなかった脊髄後角におけるシナプス前グリシン受容体の存在と機能性を明らかにすること。

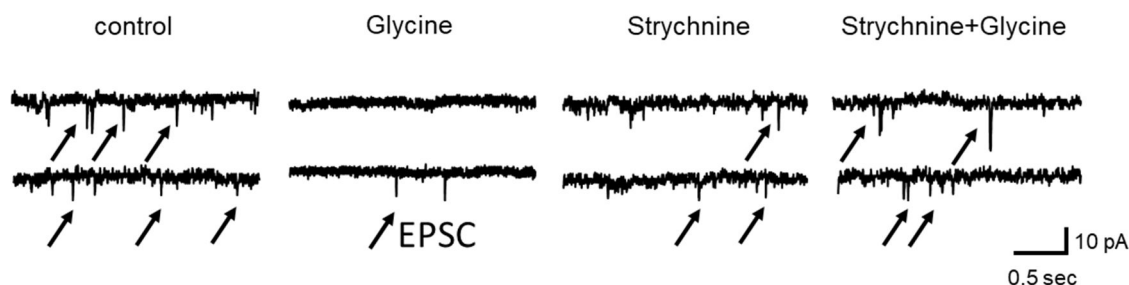
### 3. 研究の方法

ウレタンで麻酔した5-8週齢のSDラットからL3あるいはL4の後根付き脊髄スライス標本を作製する。脊髄後角の第2層にマイクロマンニピュレータを使用してガラス電極を刺入し、第2層の膠様質細胞からホールセルパッチクランプ記録を行う。様々な濃度のグリシンを還流投与し、興奮性シナプス後電流の頻度の変化を観察する。またグリシン受容体拮抗薬であるストリキニン存在下での変化も同様に観察し比較対照とする。

### 4. 研究成果

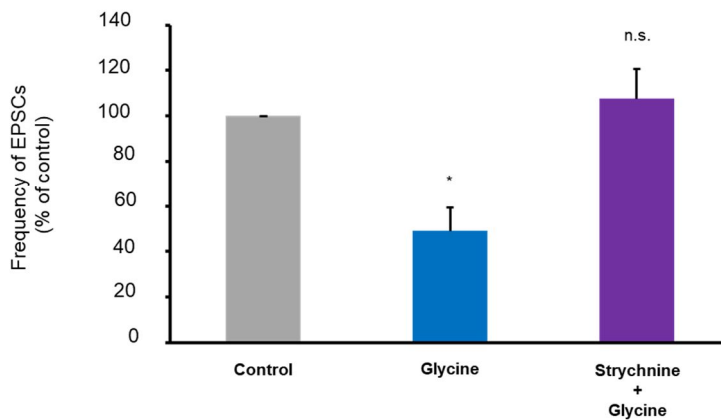
(1) 2mMのグリシンの還流投与によって興奮性シナプス後電流 (EPSC) が抑制された。またグリシン投与下で外向き電流を認め、その逆転電位は $-75.3 \pm 1.4\text{mV}$  でクロライドイオンの平衡電位に近い値であった。グリシン受容体はクロライドイオンチャンネルであり、グリシンが神経細胞膜のグリシン受容体に作用していることを確認した。還流投与終了後、十分な洗い出しののちにグリシン受容体拮抗薬であるストリキニンを還流投与し、ストリキニン存在下でのグリシンのEPSCの変化を観察した。ストリキニン存在下ではグリシンによるEPSCの抑制は認めなかった(図1)。

図1 グリシンによるEPSCの変化



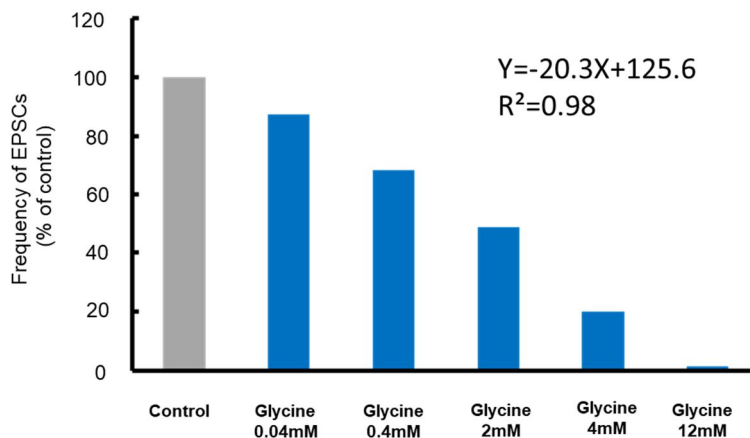
EPSCの頻度をコントロールと比較したところ、グリシンの還流投与でEPSCの発生頻度はコントロールの $48 \pm 12\%$ に抑制され、ストリキニン存在下でのグリシン投与では $107 \pm 13\%$ とグリシンの抑制作用は認めなかった(図2)。

図2 グリシンによるEPSCの頻度の低下とストリキニンによる拮抗



次にグリシンの濃度を変更し、それぞれの EPSC の頻度を検討した。コントロールと比較し、グリシン 0.04mM で  $87.25 \pm 7.6\%$ 、0.4mM で  $68.25 \pm 7.8\%$ 、4mM で  $20.1 \pm 8.0\%$ 、12mM で  $1.5 \pm 0.9\%$  と低下を認め、グリシンの濃度が上がるに従いその抑制効果も強くなることが明らかとなった (図3)

図3 グリシンによる濃度依存性のEPSCの頻度の抑制作用



以上のことから、グリシンはシナプス前神経終末のグリシン受容体に作用し、膜を過分極させることによって、濃度依存性に EPSC の頻度を抑制したことが明らかとなった。一般的に EPSC の発生頻度はシナプス前神経終末からの神経伝達物質の放出量を反映するといわれており、本研究結果から、グリシンはシナプス前神経終末を過分極させることによって神経伝達物質の放出量を抑制すると考えられる。本研究結果より、シナプス前グリシン受容体が機能性をもってシナプス間の伝達物質の調節を行っていることが明らかとなった。このことはシナプス前グリシン受容体が、疼痛コントロールにおける新薬開発のための新たな標的部位になる可能性を示している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 住江 誠
2. 発表標題 Effect of selective GIRK channel agonist at spinal dorsal horn
3. 学会等名 BKP Pain meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年～2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------