

研究・調査報告書

分類番号	報告書番号	担当
B-180	21-249	元高崎健康福祉大学 八田慎一
題名(原題/訳)		
Modulatory actions of the glycine receptor β subunit on the positive allosteric modulation of ethanol in $\alpha 2$ containing receptors. グリシン $\alpha 2$ サブユニット含有受容体のエタノールによる陽性アロステリック修飾効果に対するグリシン受容体 β サブユニットの調節作用		
執筆者		
Muñoz B, Mariqueo T, Murath P, Peters C, Yevenes GE, Moraga-Cid G, Peoples RW, Aguayo LG.		
掲載誌		
Front Mol Neurosci. 2021; 14:763868. doi: 10.3389/fnmol.2021.763868.		
キーワード		PMID:
アルコール、グリシン受容体、アロステリック修飾作用、G-タンパク質		34867189
要旨		
<p>目的:グリシン受容体(GlyR)はαサブユニット($\alpha 1 \sim \alpha 4$)とβサブユニットの5量体構造から成り、その中心に陰イオンチャンネルが形成される。5量体はホモ5α、ヘテロ$2\alpha-3\beta$あるいは$3\alpha-2\beta$で形成される。$\alpha 1$含有 GlyR は脊髄と脳幹でのシナプス抑制の主要調節因子であり、薬理的濃度のエタノール(EtOH)が$\alpha 1$含有 GlyR を促進的に調節することが示されている。一方、側坐核では$\alpha 2$含有 GlyR が存在し、また、側坐核 GlyR の EtOH 摂取や探索行動への関与が推測されている。しかし、$\alpha 2$含有 GlyR の EtOH に対する感受性は十分には理解されていない。本研究は、この点について HEK-293 細胞を使用して検討した。</p> <p>方法:HEK-293 細胞に GlyR $\alpha 1$、$\alpha 2$、βサブユニット、あるいは、細胞内ループの2つのアミノ酸を変異させた(K389→K389A、R390→R390A)$\alpha 2$ サブユニットを発現させて使用した。それぞれの GlyR 機能はホールセル電位固定パッチクランプ法で電気生理学的に解析した。また、単一チャンネルの機能は、アウトサイド-アウトパッチクランプ法で解析した。</p> <p>結果:GlyR の$\alpha 2$とβの共発現($4\alpha:1\beta$)で、ホモ$\alpha 1$ GlyR に類似した活性化が見られた。βサブユニットとの共発現で、$\alpha 2$ GlyR の Gly EC₅₀ はホモ$\alpha 2$ GlyR と比べて低下した。EtOH に対して、ホモ$\alpha 2$ GlyR は非感受性(100 mM)であったが、ヘテロ$\alpha 2\beta$ GlyR は高い感受性(10 mM)を示した。単一チャンネル機能の解析で、αとβの共発現は、ホモ GlyR と比べて、チャンネルコンダクタンスが低下した。GTP-γ-S で Gly 活性化電流振幅が増強され、G タンパク質の G$\beta\gamma$による GlyR 活性の亢進が生じる。GTP-γ-S でホモ$\alpha 2$ GlyR では変化なかったが、ヘテロ$\alpha 2\beta$ GlyR では電流が増加し、さらに、G$\beta\gamma$捕獲剤 α-GRK2 の過剰発現で$\alpha 2\beta$ GlyR の EtOH による増強が減弱した。これらは、G$\beta\gamma$情報が$\alpha 2$ GlyR に対する EtOH 効果で重要であることを示している。K389とR390の変異$\alpha 2$とβの共発現で、ヘテロ$\alpha 2\beta$ GlyR で見られた EtOH の増強作用が消失し、単一チャンネル機能では低濃度 EtOH 効果に対して抵抗性が示され、2アミノ酸残基とβサブユニットは EtOH による$\alpha 2$ GlyR 調節で重要であることを示唆された。GlyR に対する陽性アロステリック修飾物質(GTP-γ-S、プロポフォール、Zn²⁺、トリクロロエタノール)の作用で$\alpha 2\beta$ GlyR は増強されるが、ホモ$\alpha 2$ GlyR での増強は見られず、ヘテロ$\alpha 2\beta$ GlyR とホモ$\alpha 2$ GlyR のアロステリック調節は異なることが示された。</p> <p>結論:本研究は、$\alpha 2$含有 GlyR の EtOH や他の陽性アロステリック修飾物質による調節におけるβサブユニットの新たな役割を示し、$\alpha 2$ GlyR が豊富に発現している上部脳領域に関連する EtOH 薬理作用のあらたな機序を提示するものである。β発現 GlyR は、$\alpha 2$サブユニットを発現している脳領域の興奮性の調節で重要な役割を果たしていることが示唆される。</p>		