

孤束核内側部消化器領域ニューロンの膜特性とコレシストキニン感受性

鈴木, 健治
九州大学医学部生理学第一講座

<https://doi.org/10.15017/7318860>

出版情報：福岡醫學雑誌. 86 (3), pp.79-88, 1995-03-25. Fukuoka Medical Association
バージョン：
権利関係：



原 著

孤束核内側部消化器領域ニューロンの膜特性と
コレシストキニン感受性

九州大学医学部生理学第一講座 (指導: 堀 哲郎教授)

鈴 木 健 治

Membrane Properties and Cholecystokinin Sensitivity of Neurons in the
Gastrointestinal Medial Region of the Nucleus Tractus Solitarius

Kenji SUZUKI

*Department of Physiology (Director: Prof. T. Hori) Faculty of Medicine,
Kyushu University 60, Fukuoka 812-82*

The medial region of the nucleus tractus solitarius (mNTS) has been shown to receive inputs from gastrointestinal afferents and to possess type A receptors of cholecystokinin (CCK) which mediate a satiety signal. In the present study, we examined the electrophysiological properties of neurons of the rat mNTS and their CCK responsiveness by means of *in vitro* intracellular recording. The mNTS neurons ($n=51$) were classified into three groups, based on their different firing response patterns to injection of depolarizing current, showing repetitive firing ("repetitive" type, $n=21$), delayed excitation ("delayed" type, $n=12$) or a single action potential ("single" type, $n=18$). Current-voltage ($I-V$) relations were different among the three types. "Repetitive" type neurons had anomalous rectification, while "delayed" type neurons showed delayed rectification. "Single" type neurons had linear $I-V$ relations. Although the levels of the resting membrane potential, the sizes of the action potentials and the afterhyperpolarizations did not differ among the groups, input resistances of the "single" type neurons ($103 \pm 12 \text{ M}\Omega$) were significantly smaller than those of "repetitive" ($161 \pm 11 \text{ M}\Omega$) and "delayed" types ($143 \pm 17 \text{ M}\Omega$) of neurons ($p < 0.05$). Bath application of CCK-8S (100nM) induced depolarization in 15 of 51 mNTS neurons. Fifty-two percent of "repetitive" type neurons, but only 25% of "delayed" type and 6% of "single" type neurons responded to CCK. Although "delayed" and "single" types of neurons were widely distributed in the mNTS, "repetitive" type neurons were localized mainly in the subnucleus centralis of the mNTS. These results suggest that the "repetitive" type neurons in the mNTS may play a predominant role in CCK-mediated functions.

は じ め に

ラット延髄孤束核 (NTS) 尾側領域は、胸腹部臓器から求心性迷走神経を介して内蔵感覚情報を受け取り、それを迷走神経背側運動核あるいは脚傍核や視床下部に伝えることにより自律機能の調節に重要な役割を果たしている²¹⁾。解剖学および生理学的研究から孤束核尾側領域はさらにいくつかの亜核に分類されている。背側および腹側孤束核は、主として心血管系や呼吸器

系からの入力を受け、呼吸循環調節に関与している¹⁹⁾³⁴⁾。一方、内側孤束核は消化管からの求心性入力が多く¹⁾¹⁹⁾³³⁾、蠕動運動や嚥下運動に重要な役割を果たしており⁴⁾²³⁾、胃の伸展に対して興奮や抑制反応を示す細胞や嚥下運動に先行して興奮する細胞などが見いだされている¹⁸⁾²²⁾。呼吸循環器領域の背側および腹側孤束核では電気生理学的解析によりニューロンの膜特性とそのイオン機構が調べられており⁸⁾⁹⁾¹⁴⁾²⁷⁾³⁷⁾、それぞれ数種類の異なるタイプのニューロンから構成されてい

ることが明らかになっている。しかしながら、消化器領域である内側孤束核ニューロンの電気生理学的特性の解析はまだ行われていない。

最近、内側孤束核にコレシストキニン (CCK) の末梢型受容体である CCKA 型受容体が密に存在することが明らかになった¹⁵⁾¹⁶⁾。CCK は消化管ホルモンとして発見されたが、硫酸基を持つ C 末端オクタペプチド (CCK-8S) のかたちで中枢神経にも豊富に存在し⁴⁾⁴⁶⁾、孤束核でも CCK 含有線維および神経細胞が存在している⁴⁴⁾⁴⁸⁾。CCK は代表的な摂食抑制物質として知られており、腹腔内あるいは中枢性に脳室内、視床下部、橋脚傍核、あるいは孤束核領域近傍に投与すると、強力な摂食抑制作用を示す¹⁰⁾¹³⁾³⁵⁾³⁹⁾。CCK の末梢性および中枢性摂食抑制作用はどちらも A 型受容体遮断薬で阻害され³¹⁾¹¹⁾¹⁷⁾、また A 型受容体作動薬で摂食が抑制されることから²⁾、A 型受容体が摂食抑制に主な役割を果たしていることが推測できる。孤束核ニューロンにおける CCK の作用は、これまでに孤束核複合領域において B 型受容体を介した長持続の興奮と A 型受容体を介した潜時の遅い遅延抑制ならびに両者が複合したタイプである短持続の興奮が報告されている⁷⁾。また迷走神経背側運動核でも CCK に対する興奮および抑制の 2 種類の反応が記録されている²⁸⁾。このように孤束核内における CCK 受容体の分布の違いにより亜核間で CCK 感受性が異なる可能性がある。特に、内側孤束核ニューロンの CCK 感受性の特徴を明らかにすることは、この部位のニューロンの機能を理解する上で重要である。そこで本研究では、ラット脳切片標本を用いた細胞内電位記録法により、内側孤束核領域で電気生理学特性により細胞の分類を行い、さらに各細胞群の CCK 感受性の差を調べ、その機能的意義を検討した。

実 験 方 法

1. 動物および脳切片作成

体重 100-150 g の Wistar 系雄ラットを用い、以下の手順で脳切片標本を作成した。ラットをエーテル麻酔下で、胸背部打撲後、脳幹および上部頸髄を含む全脳をすばやく摘出し、4°C の Krebs-Ringer 液に浸した後に脳幹部を切り出した。ピプラトーム式スライサーを用いて厚さ 400 μ m の孤束核を含む前額断脳切片標本を作成した。脳切片を 95% O₂-5% CO₂ で飽和した Krebs-Ringer 液中に室温で約 1 時間インキュベートした後、34~36°C に保温した Krebs-Ringer 液を持続的に灌流する記録槽に移し、細胞内電位記録を行っ

た。Krebs-Ringer 液の組成は 120 mM NaCl, 5 mM KCl, 1.23 mM NaH₂PO₄, 2.4 mM CaCl₂, 1.24 mM MgSO₄, 26 mM NaHCO₃, 10 mM Glucose (pH 7.4) とした。

2. 細胞内記録

細胞内記録電極は 3 M の酢酸カリウムを充填したガラス微小電極を用い、高インピーダンス前置増幅器に接続した。不関電極はチャンバーに固定した銀-塩化銀線を用い、刺激電極はタングステン双極電極を用いた。孤束の刺激に対して順行性応答を示した細胞で、静止電位が -50 mV 以下、活動電位の大きさが 50 mV 以上で少なくとも 30 分以上安定して記録できたものを解析した。細胞の入力抵抗は陰性矩形波電流 (持続時間, 200 msec; 頻度, 0.1 Hz) の細胞内通電によって発生する膜電位降下あるいは電流-電圧曲線の傾きから算出した。記録電極から孤束核細胞内に脱分極通電 (持続時間, 0.8-1.2 sec) を行い、発火様式を調べた。孤束核ニューロンは反復発火型と非反復発火型とに大別できるが、Paton らは背側孤束核で、非反復発火型をさらに遅延発火型、群発火型、単一発火型に分類した²⁷⁾³⁷⁾。この分類によると各型の膜の特性がよく区別でき、また関与するイオン機構も調べられている。そこで本研究では Paton らの方法に準じて分類を行った。

CCK-8S (100 nM, ペプチド研究所) は人工脳脊髄液中に溶解し、1.5 ml/min の速度で 2 分間灌流投与した。薬液がチャンバーに到達するまでの時間は常に一定で 1.5 分であった。

3. 記録部位の同定

電位記録を行う際、孤束核は実体顕微鏡下で透過性の高い部位として容易に確認でき、切片標本と同じ条件で作成した 80 μ m 脳切片標本を参考にしながら内側孤束核内での記録部位を同定した。実験終了後、陰性電流を (1-5 μ A, 3 分間) を記録電極から通電し、微量のボンタミンスカイブルーで電極外に出し記録部位をマークした。切片を、10%ホルマリン液に 1 時間固定し、厚さ 100 μ m の凍結切片を作成し、ニュートラルレッドで染色し同定した。

4. 統計解析

電気生理学的特性のうち、静止膜電位、活動電位および後過分極電位の大きさ、入力抵抗値の比較は一元分散分析 (ANOVA) および Student-Newman-Keuls' multiple-range test を用いた。CCK 感受性の比較には χ^2 検定を用いた。危険度 5% 以下を統計的に有意とした。

結 果

50 匹のラットから作成した切片標本の内側孤束核領域より 51 個の細胞を記録した。これらの細胞は孤束刺激により順行性シナプス電位が観察されるもので、静止膜電位では自発発火活動を示さなかった。

1. 内側孤束核ニューロンの電気生理学特性

検索した 51 個のニューロンはその細胞内脱分極通

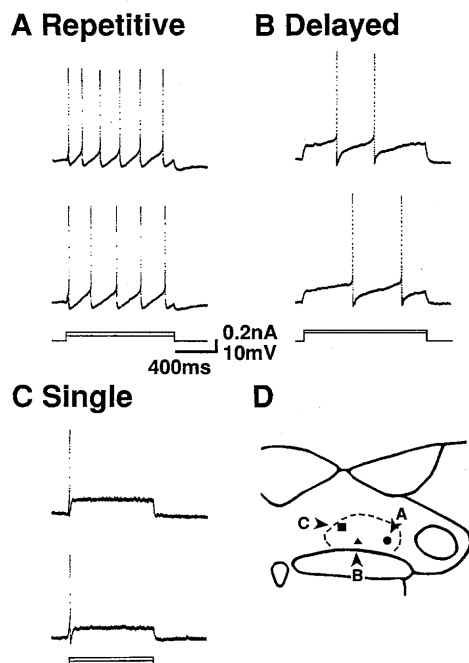


Fig. 1 Characteristic firing behavior of the three different types of neurons in the medial NTS. A, a "repetitive" type neuron characterized by repetitive firing during depolarizing current injection (1 s pulses; 0.07 nA and 0.01 nA). Both traces, same resting membrane potential (-58 mV). B, a "delayed" type neuron showing delayed excitation (300 to 500 ms.) responding to depolarizing current (1.2 s pulses; 0.16 nA and 0.12 nA). Both traces, same resting membrane potential (-67 mV). C, a "single" type neuron which fired only once responding to depolarizing current (0.8 s pulses; 0.07 nA and 0.10 nA). Both traces, same resting membrane potential (-64 mV). D, loci of recorded neurons shown in Fig. 1 A, B and C as indicated. The region surrounded by dotted line indicates the mNTS.

電に対する発火応答様式により、活動電位が反復して発生する反復発火型、活動電位発生が遅延する遅延発火型、単一の活動電位のみ発生する単一発火型の 3 型に分類された (図 1)。

活動電位が繰り返し観察される反復発火型細胞は、21 個 (41%) 記録された (図 1 A)。このうち脱分極通電後半に発火頻度が低下するいわゆる順応を示す細胞が 21 個中 7 個あった。この順応反応は外液を無 Ca^{2+} /高 Mg^{2+} 溶液にすると消失した。また 2 個の細胞で過分極通電後に抑制後反発電位が観察された。活動電位発生が遅延する遅延発火型細胞は、12 個 (24%) 存在した (図 1 B)。遅延時間は脱分極通電による膜電位の上昇に依存して短くなるが、活動電位発生までの遅延時間は静止電位での他の 2 タイプが 10 ms 以内であったのに対してこのタイプは 50-500 ms と長く、明らかに他群の細胞と区別することができた。通電による膜電位に関係なく単一活動電位しか発生しない単一発火型の細胞は 18 個 (35%) であった (図 1 C)。このうち 2 個の細胞で過分極通電後に抑制後反発電位が観察された。脱分極通電中、初期に 2-5 個の活動電位が群発発火する細胞が記録されることがあったが、記録部位を確認するとすべて内側孤束核内ではなく背側領域であったため、解析からは除いた (図 2)。

電流-電圧曲線を 14 個の細胞で計測した。反復発火型に分類された 6 個の細胞の電流-電圧特性は、膜電

Burst

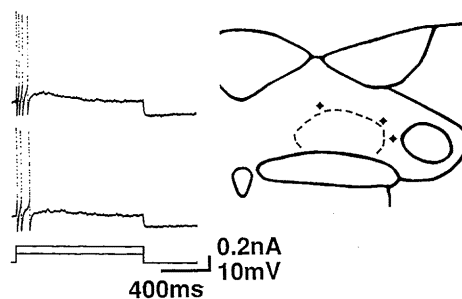


Fig. 2 The firing behavior and topographical distribution of "burstic" neurons. Left, a burstic activity responding to depolarizing current (1 s pulses; 0.10 nA and 0.20 nA). Both traces, same resting membrane potential (-58 mV). Right, a representative transverse section. The region surrounded by dotted line indicates mNTS. This type of neurons were located dorsal to the mNTS.

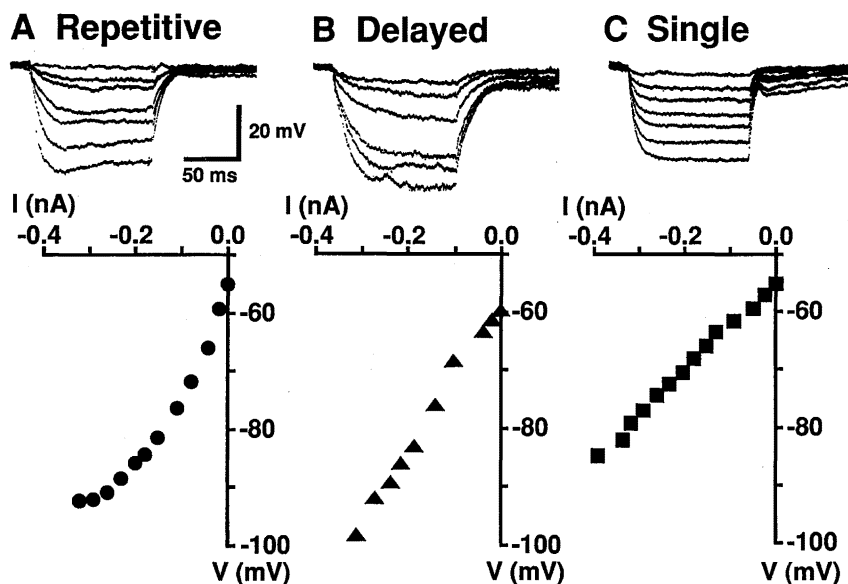


Fig. 3 Representative current-voltage (I-V) relations of the three different types of neurons in the mNTS. Rectangular current pulses (200 ms) of increasing intensity were injected through the recording electrode and the voltage responses were recorded in each cell type. A, a “repetitive” type neuron shows non-linear I-V relations at potentials negative to -80 mV, indicating progressive activation of inward rectifying currents (anomalous rectification). B, a “delayed” type neuron showing outward (delayed) rectification at potentials negative to -70 mV. C, a single type neuron indicating a linear I-V curve.

位が-80--110 mV 付近で内向き（異常）整流を示すものが多かった（図3 A）。遅延発火型に分類された4個の細胞の電流-電圧特性は、静止膜電位付近から過分極側で外向き（遅延）整流が観察された（図3 B）。単一発火型に分類された4個の細胞の電流-電圧特性は、ほぼ直線的であったがわずかに外向き整流が認められるものもあった（図3 C）。

他の電気生理学的特性のうち、静止膜電位、活動電位および後過分極電位の大きさ、ならびに入力抵抗を各型の間で比較した（表1）。静止電位、活動電位および後過分極電位の大きさには3群間で有意の差はなかったが、入力抵抗には差があり（ANOVA, $F(2, 48) = 6.4$, $p < 0.01$ ）。単一発火型がもっとも低い値（ $103 \pm 12 \text{ M}\Omega$ ）を示した（ $p < 0.05$ ）。

2. 内側孤束核ニューロンのCCK感受性

電気生理学特性を同定した後、CCK-8Sに対する応答性を調べた。CCK-8S（100 nM）の灌流投与に対して、51個中15個（29%）の細胞が活動電位を伴う脱分極反応を示した（図4）。この脱分極反応の電位変化は平均 $4.5 \pm 0.3 \text{ mV}$ 、反応の持続時間は平均 9.7 ± 1.1

Table 1 Electrophysiological properties of the three cell types in the medial NTS

Neuronal properties	Cell type		
	Repetitive n=21	Delayed n=12	Single n=18
RMP(mV)	-59 ± 1	-62 ± 1	-58 ± 1
Spike height(mV)	67 ± 3	71 ± 3	62 ± 4
AHP(mV)	15 ± 1	20 ± 2	27 ± 13
Resistance(M Ω)	161 ± 11	143 ± 17	$103 \pm 12^*$
CCK-induced	11 [§]	3	1
Responses(n)	(52 %)	(25 %)	(6 %)

RMP, resting membrane potential; AHP, magnitude of afterhyperpolarization; n, refers to the number of cells. All values are means $\pm$ S. E. M. * $p < 0.05$ (compared with other two types, Student-Newman-keuls' multiple-range test); [§] $p < 0.05$ (χ^2 test).

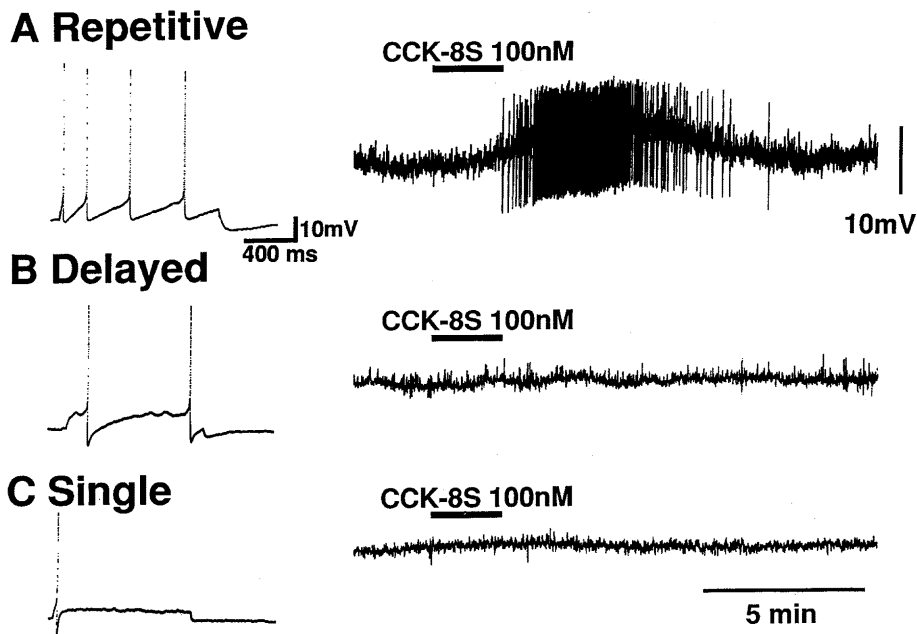


Fig. 4 The effects of cholecystokinin (CCK) on the three types of neurons. Left, characteristic firing behavior of each type of neuron. Right, effect of bath application of CCK-8 S (100 nM). The majority of CCK responsive neurons were observed in the “repetitive” type neurons. Bar, perfusion time of CCK. Scales are as indicated.

Table 2 Electrophysiological properties of CCK-sensitive and CCK-insensitive neurons in the mNTS

Cell type	CCK response	n	Neuronal properties			
			RMP (mV)	Spike height (mV)	AHP (mV)	Resistance (MΩ)
Repetitive	↑	11	-60±1	68±4	13±2	155±13
	→	10	-58±2	64±4	15±2	168±18
Delayed	↑	3	-64±1	71±2	19±2	136±48
	→	9	-61±2	69±5	21±2	146±18
Single	↑	1	-50	54	20	98
	→	17	-59±1	64±4	28±15	104±13

RMP, resting membrane potential; AHP, magnitude of afterhyperpolarization. n, refers to the number of cells. ↑, depolarization. →, no response. All values are means±S. E. M.

分であった。各群の CCK 感受性を比較すると、反復発火型細胞では 52% (11/21)、遅延発火型および単一発火型ではそれぞれ 25% (3/12) および 6% (1/18) の細胞が脱分極反応を示し、3 群の CCK 感受性には有意の差があった ($p < 0.05$) (表 1)。図には示していないが、CCK による脱分極反応中入力抵抗は増加し、脱

分極反応中に膜電位を一次的に投与前のレベルにした状態でも、入力抵抗は増加していた。CCK 感受性細胞と CCK 非感受性細胞とで、静止膜電位、入力抵抗、活動電位および後過分極電位の大きさを比較すると、どのパラメーターも、両者の間に有意の差は認められなかった (表 2)。

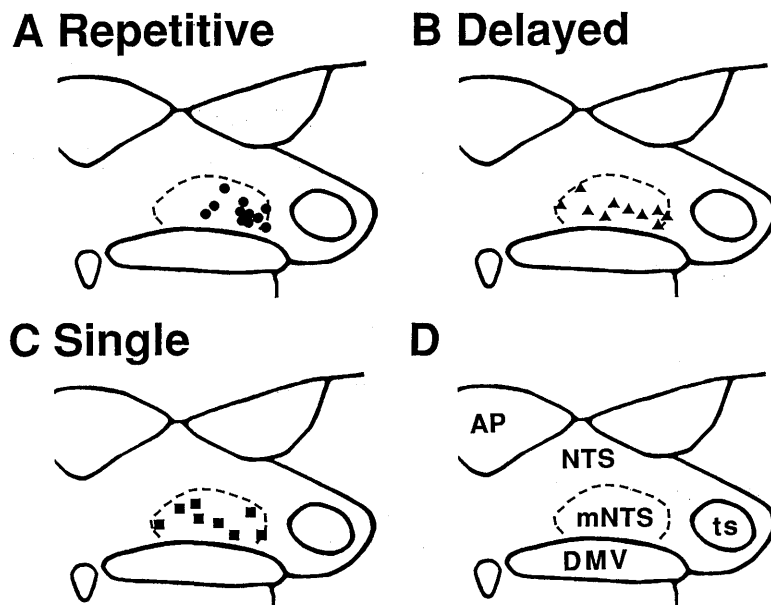


Fig. 5 Schematic drawing of transverse sections of the dorsal medulla at the level of area postrema. The region surrounded by dotted line indicates mNTS where gastrointestinal afferents predominantly terminate. While “delayed” and “single” types of neurons were widely distributed in the mNTS, the majority of “repetitive” type neurons were recorded at lateral region in the mNTS (subnucleus centralis of the mNTS). AP; area postrema, DMV; dorsal motor nucleus of the vagus, ts; solitary tract.

記録細胞のうち部位を同定できたもので、それぞれのタイプの分布を図5に示す。遅延発火型および単一発火型ニューロンは内側孤束核全体に広く分布していたのに対して、反復発火型ニューロンは内側孤束核でも比較的外側の中心亜核とも呼ばれる領域に局限していた。

考 察

本研究で脱分極通電に対する発火様式により内側孤束核細胞を三つのタイプに分類できた。すなわち、脱分極通電中発火を繰り返す反復発火型、活動電位の発生に遅延が生じる遅延発火型および活動段位が一回だけ発生する単一発火型である。これらの細胞のうち内側孤束核の外側部（内側孤束核中心亜核：subnucleus centralis of the mNTS）に多く分布する反復発火型細胞が、主としてCCK感受性を示した。

孤束核では呼吸器系入力のある腹側孤束核⁸⁾⁹⁾¹⁴⁾、心臓血管系および呼吸器系入力のある背側孤束核²⁷⁾³⁷⁾、および味覚入力のある吻側孤束核⁶⁾において電気生理学的性質によるニューロンの分類が試みられている。

反復発火型細胞は上記の亜核すべてにおいて記録されている。非反復発火型細胞については部位差が認められる。群発発火型細胞はラット背側孤束核²⁷⁾、吻側孤束核⁶⁾およびモルモット腹側孤束核⁸⁾⁹⁾で記録されているが、ラット腹側孤束核では報告されていない¹⁴⁾。また今回記録した単一発火型細胞はラット内側孤束核以外にラット背側孤束核で記録されているが²⁷⁾³⁷⁾、ラット吻側孤束核やモルモット腹側孤束核では報告されていない⁶⁾⁸⁾⁹⁾¹⁴⁾。これらの部位差は、各亜核での分類基準が異なるため、測定法による差なのか生理学的に意味のある差であるのかは現時点では判断できない。また細胞の性質の違いの生理学的意義についても不明の点が多い。

本研究ではこれまで調べられていなかった消化器系入力を受けている内側孤束核ニューロンの膜特性を調べ、分類についてもPatonの分類基準を用いることにより背側孤束核と内側孤束核のより正確な比較を可能とした。背側孤束核では非反復型細胞が全体の75%を占め、とくに単一型発火型細胞が最も多いのに対して²⁷⁾、内側孤束核では反復発火型が最も多かった（41

%)。また背側孤束核で観察された群発発火型細胞は内側孤束核ではまったく記録されなかった。背側孤束核に多い非反復型細胞はその膜の性質から入力信号と異なる時系列パターンの信号を出力するのに適しており、末梢入力信号の活動様式と異なる心拍や呼吸の律動的活動を促す信号を出力している細胞が多いことが示唆される²⁷⁾³⁷⁾。一方、内側孤束核には胃の拡張に応じて興奮するニューロンや胃の運動周期や嚥下運動に対応して活動する細胞が存在しているが³⁾¹⁸⁾²²⁾⁴⁷⁾、この部位に多い反復発火型細胞は消化管からの入力信号に忠実に対応し、その情報を迷走神経背側運動核や橋脚傍核や視床下部等に伝達していることが推測できる。

内側孤束核ニューロン各型の間で静止電位、後過分極電位および活動電位の大きさに差はなかったが(表 1)、入力抵抗ではとくに単一発火型が有意に低い値を示した($103 \pm 12 \text{ M}\Omega$)。単一発火型細胞が反復発火型細胞に比べ低い入力抵抗値を示すことは、背側孤束核細胞でも認められている²⁷⁾。この細胞群は他の 2 つのタイプの細胞群と比較して、異常整流や遅延整流がほとんど見られず、線型の電流-電圧特性を示した。背側孤束核の単一発火型細胞では、イオン機構も他のタイプと異なり、一過性の速い K^+ 電流 (I_A) やカルシウムで賦活される K^+ 電流 (I_{KCa}) 成分をもっていないことが示されている²⁷⁾。

孤束核/迷走神経背側運動核領域における CCK 作用には 10 分以内に活動が元に戻る短持続性の興奮反応と 10 数分以上活動亢進が持続する長持続性の興奮反応、さらに潜時の長い遅延抑制などが報告されている⁷⁾。本実験で、内側孤束核ニューロンの CCK に対する反応は 10 分以内に活動がほとんど元のレベルに戻る短持続性の興奮であり、抑制反応は観察されなかった。解剖学的に CCK_B 受容体は背側および外側孤束核に存在し、 CCK_A 受容体は、今回記録した内側孤束核を含む内側領域に多く存在することが明らかになっている¹⁵⁾¹⁶⁾。縫線核では CCK_A 受容体を介した脱分極反応が 2-5 以内に消失する短持続の興奮性応答が見いだされている⁵⁾。我々は細胞外記録により CCK による短持続性興奮が CCK_A 受容体遮断薬で抑制されることを見出しており⁴³⁾、内側孤束核の興奮反応は CCK_A 型受容体を介した反応であると考えられる。内側孤束核は胃からの迷走神経の入力がある部位であり²⁰⁾³⁸⁾、孤束核内に興奮性アミノ酸のグルタミン酸を微量投与すると胃の弛緩が起こり⁴¹⁾、また CCK の微量投与でも胃の内圧が低下し、周期的な収縮が抑えられる⁴⁵⁾。これらの結果および本研究は CCK が内側孤束核の反復

発火型細胞を興奮されることにより胃の弛緩を引き起こす可能性を示している。

内側孤束核は末梢 CCK の摂食抑制作用の発現にも必須の部位でもある。孤束核内側領域を破壊すると末梢投与の CCK 摂食抑制作用が消失する¹²⁾。内側孤束核は、摂食行動を調節している視床下部や前脳に直接あるいは間接的に線維連絡がある²⁹⁾³⁰⁾。なかでも、CCK 感受性細胞である反復型細胞が多く分布していた内側孤束核中心亜核は CCK 腹腔内投与により cFos が発現する部位であり³¹⁾³²⁾、視床下部、扁桃核、橋脚傍核や分界条床核へカテコラミン含有線維を投射している³⁰⁾。CCK 腹腔内投与によって室傍核のオキシトシン細胞の c-fos の発現が誘発されるが³²⁵⁾、CCK による摂食抑制作用は CCK_A 受容体遮断薬だけでなく³⁾¹¹⁾¹⁷⁾、オキシトシン受容体遮断薬の中枢投与でも抑制される²⁴⁾。また摂食により視床下部でも CCK の分泌が亢進することも明らかになっている³⁶⁾。以上の所見から CCK が内側孤束核ニューロンを興奮させることにより視床下部から CCK およびオキシトシンを分泌させることによって摂食行動を抑制させていることが考えられる。グルコースや遊離脂肪酸はエネルギー平衡に直接対応した摂食調節因子として重要な役割を果たしている。一方、CCK は胃の拡張などエネルギー出納の平衡に直接関与しないシグナルによっても産生が誘導される摂食調節因子の代表的なものの一つである⁴²⁾。エネルギー平衡に関する情報は、末梢臓器、延髄、視床下部などに存在する化学感受性(ブドウ糖感受性)ニューロンで階層的に処理されているが³²⁶⁾、本研究により末梢および視床下部に加えて¹³⁾³⁹⁾⁴⁰⁾、中継核としての延髄孤束核における CCK の作用特性が明らかになった。CCK によるエネルギー平衡によらない摂食調節も、グルコースの場合と同様に階層的な情報処理機構により抑制されている可能性がある。

総 括

1) 内側孤束核細胞は脱分極通電による発火様式により、活動電位が反復して発生する反復発火型、活動電位発生が遅延する遅延発火型および単一の活動電位が発生する単一発火型の 3 種類のタイプに分類された。

2) 各型の記録頻度はそれぞれ反復発火型が 41%、遅延発火型が 24% および単一発火型が 35% であった。

3) 電流-電圧曲線を調べると、反復発火型細胞は主として内向き(異常)整流を示し、遅延発火型細胞は外向き(遅延)整流を、また単一発火型細胞は線型

の電流-電圧特性を示した。

4) 各型の静止電位、後過分極電位、活動電位に違いはなかったが、入力抵抗に差があり、単一発火型がもっとも低い入力抵抗値 ($103 \pm 12 \text{ M}\Omega$) を示した ($p < 0.05$)。

5) CCK-8S 100 nM の灌流投与に対して、51 個の細胞中 15 個 (29%) が活動電位を伴う脱分極反応を示した。このうち反復発火型の 52% (11/21) 遅延発火型の 25% (3/12) および単一発火型の 6% (1/18) の細胞が脱分極反応を示した。

6) 遅延発火型および単一発火型細胞は内側孤束核全体に広く分布していたのに対して、反復発火型は内側孤束核中心亜核に主として局在した。

7) 孤束核における CCK の消化器機能や摂食行動の抑制作用の少なくとも一部に、内側孤束核中心亜核の反復発火型細胞の CCK 興奮性応答が関与している。

本研究を行うにあたり、終始丁寧な御指導、御校閲を賜りました九州大学医学部生理学教室第一講座堀哲郎教授に深く感謝いたします。また、九州大学医学部生理学教室第一講座栗生修司助教授および清水宣明講師(現、金沢大学工学部助教授)の御助言、御支援に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Altschuler SM, Bao X, Bieger D, Hopkins DA and Miselis RR: Viscerotopic representation of the upper alimentary tract in the rat: Sensory ganglia and nuclei of the solitary and spinal trigeminal tracts. *J. Comp. Neurol.* 283: 248-268, 1989.
- 2) Asin KE, Gore PA Jr, Bednarz L, Holladay M and Nadzan AM: Effects of selective CCK receptor agonists on food intake after central or peripheral administration in rats. *Brain Res.* 571: 169-174, 1992.
- 3) Baldwin BA, De La Riva C and Gerskowitz VP: Effect of a novel CCK_A receptor antagonist (2-NAP) on the reduction in food intake produced by CCK in pigs. *Physiol. Behav.* 55: 175-179, 1994.
- 4) Beinfeld MC, Meyer DK, Eskay RL, Jensen RT and Brownstein MJ: The distribution of cholecystokinin immunoreactivity in the central nervous system of the rat as determined by radioimmunoassay. *Brain Res.* 212: 51-57, 1981.
- 5) Boden PR, Woodruff GN and Pinnock RD: Pharmacology of a cholecystokinin receptor on 5-hydroxytryptamine neurons in the dorsal raphe of the rat brain. *Br. J. Pharmacol.* 102: 635-638, 1991.
- 6) Bradley RM and Sweazey RD: Separation of neuron types in the gustatory zone of the nucleus tractus solitarius on the basis of intrinsic firing properties. *J. Neurophysiol.* 67: 1659-1668, 1992.
- 7) Branchereau P, Bohme GA, Champagnat J, Morin-Surun M-P, Durieux C, Blanchard JC, Roques BP and Denavit-Saubie M: Cholecystokinin_A and cholecystokinin_B receptors in neurons of the brainstem solitary complex of the rat: pharmacological identification. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 260: 1433-1440, 1992.
- 8) Dekin MS, Getting PA and Johnson SM: In vitro characterization of neurons in the ventral part of the nucleus tractus solitarius. I. Identification of neuronal types and repetitive firing properties. *J. Neurophysiol.* 58: 195-214, 1987.
- 9) Dekin MS and Getting PA: In vitro characterization of neurons in the ventral part of the nucleus tractus solitarius. II. Ionic basis for repetitive firing patterns. *J. Neurophysiol.* 58: 215-229, 1987.
- 10) Della-Fera MA, Coleman BD and Baile CA: CNS injection of CCK in rats: effects on real and sham feeding and gastric emptying. *Am. J. Physiol.* 258: R1165-R1169, 1990.
- 11) Dourish CT, Ruckert AC, Tattersall FD and Iversen SD: Evidence that decreased feeding induced by systemic injection of cholecystokinin is mediated by CCK-A receptors. *Eur. J. Pharmacol.* 173: 233-234, 1989.
- 12) Edwards GL, Ladenheim EE and Ritter RC: Dorsomedial hindbrain participation in cholecystokinin-induced satiety. *Am. J. Physiol.* 251: R971-R977, 1986.
- 13) Gibbs J, Young RC and Smith GP: Cholecystokinin decreases food intake in rats. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 84: 488-495, 1973.
- 14) Haddad GG and Getting PA: Repetitive firing properties of neurons in the ventral region of nucleus tractus solitarius. In vitro studies in adult and neonatal rat. *J. Neurophysiol.* 62: 1213-1224, 1989.
- 15) Hill DR, Campbell NJ, Shaw TM and Woodruff GN: Autoradiographic localization and biochemical characterization of peripheral type CCK receptors in rat CNS using highly selective nonpeptide CCK antagonists. *J. Neurosci.* 7: 2967-2976, 1987.
- 16) Hill DR and Woodruff GN: Differentiation of central cholecystokinin receptor binding sites using the non-peptide antagonists MK-329 and L-365,260. *Brain Res.* 526: 276-283, 1990.
- 17) Hirose Y, Inui A, Teranishi A, Miura M, Nakajima M, Okita M, Nakajima Y, Himori N, Baba S and Kasuga M: Cholecystokinin octapeptide analogues suppress food intake via central

CCK-A receptors in mice. *Am J. Physiol.*: 265: R481-R486 1993.

18) Jean A: Brainstem organization of the swallowing network. *Brain Behav. Evol.* 25: 109-116, 1984.

19) Kalia M and Sullivan JM: Brainstem projections of sensory and motor components of the vagus nerve in the rat. *J. Comp. Neurol.* 211: 248-264, 1982.

20) Leslie RA, Gwyn DG and Hopkins DA: The central distribution of the cervical vagus nerve and gastric afferent and efferent projections in the rat. *Brain Res. Bull.* 8: 37-43, 1982.

21) Loewy AD: Central autonomic pathways. Loewy AD and Spyer KM (Ed.) *Central Regulation of Autonomic Functions*. pp87-103, Oxford University Press, Inc. New York/Oxford, 1990.

22) McCann MJ and Rogers RC: Impact of antral mechanoreceptor activation on the vagovagal reflex in the rat: functional zonation of responses. *J. Physiol.* 453: 401-411, 1992.

23) Miller AJ: Neurophysiological basis of swallowing. *Dysphagia* 1: 91-100, 1986.

24) Olson BR, Drutarosky MD, Stricker EM and Verbalis JG: Brain oxytocin receptor antagonism blunts the effects of anorexigenic treatments in rats: evidence for central oxytocin inhibition of food intake. *Endocrinology* 129: 785-791, 1991.

25) Olson BR, Hoffman GE, Sved AF, Stricker EM and Verbalis JG: Cholecystokinin induces *c-fos* expression in hypothalamic oxytocinergic neurons projecting to the dorsal vagal complex. *Brain Res.* 569: 238-248, 1992.

26) Oomura Y: Chemical and neuronal control of feeding motivation. *Physiol. Behav.* 44: 555-560, 1988.

27) Paton JFR, Foster WR and Schwaber JS: Characteristic firing behavior of cell types in the cardiorespiratory region of the nucleus tractus solitarius of the rat. *Brain Res.* 604: 112-125, 1993.

28) Plata-Salaman CR, Fukuda A, Oomura Y and Minami T: Effects of sulphated cholecystokinin octapeptide (CCK-8) on the dorsal motor nucleus of the vagus. *Brain Res. Bull.* 21: 839-842, 1988.

29) Ricard JA and Koh ET: Anatomical evidence of direct projections from the nucleus of the solitary tract to the hypothalamus, amygdala, and other forebrain structures in the rat. *Brain Res.* 153: 1-26, 1978.

30) Riche D, De Pommery J and Menetrey D: Neuropeptides and catecholamines in efferent projections of the nuclei of the solitary tract in the rat. *J. Comp. Neurol.* 293: 399-424, 1990.

31) Rinaman L, Hoffman GE, Stricker EM and

Verbalis JG: Exogenous cholecystokinin activates *cFos* expression in medullary but not hypothalamic neurons in neonatal rats. *Dev. Brain Res.* 77: 140-145, 1994.

32) Rinaman L, Verbalis JG, Stricker EM and Hoffman GE: Distribution and neurochemical phenotypes of caudal medullary neurons activated to express *cFos* following peripheral administration of cholecystokinin. *J. Comp. Neurol.* 338: 475-490, 1993.

33) Rogers RC and McCann MJ: Intramedullary connection of the gastric region in the solitary nucleus: a biocytin histochemical tracing study in the rat. *J. Auton. Nerv. Syst.* 42: 119-130, 1993.

34) Ruggiero DA, Giuliano R, Anwar M, Stornetta R and Reis DJ: Anatomical substrates of cholinergic-autonomic regulation in the rat. *J. Comp. Neurol.* 292: 1-53, 1990.

35) Schick RR, Harty GJ, Yaksh TL and Go VLW: Sites in the brain at which cholecystokinin octapeptide (CCK-8) acts to suppress feeding in rats: a mapping study. *Neuropharmacology* 29: 109-118, 1990.

36) Schick RR, Yaksh TL and Go VLW: An intragastric meal releases the putative satiety factor cholecystokinin from hypothalamic neurons in cats. *Brain Res.* 370: 349-353, 1986.

37) Schwaber JS, Graves EB and Paton JFR: Computational modeling of neuronal dynamics for systems analysis: application to neurons of the cardiorespiratory NTS in the rat. *Brain Res.* 604: 126-141, 1993.

38) Shapiro RE and Miselis RR: The central organization of the vagus nerve innervating the stomach of the rat. *J. Comp. Neurol.* 238: 473-488, 1985.

39) Shiraishi T: CCK as a central satiety factor: Behavioral and electrophysiological evidence. *Physiol. Behav.* 48: 879-885, 1990.

40) Smith GP, Jerome C, Cushin BJ, Eterno R and Simansky KJ: Abdominal vagotomy blocks the satiety effect of cholecystokinin in the rat. *Science* 213: 1036-1037, 1981.

41) Spencer SE and Talman WT: Modulation of gastric and arterial pressure by nucleus tractus solitarius in rat. *Am. J. Physiol.* 250: R996-R1002, 1986.

42) Stricker EM, Verbalis JG: Caloric and non-caloric controls of food intake. *Brain Res. Bull.* 27: 299-303, 1991.

43) Suzuki K, Aou S, Shimizu N and Hori T: Cholecystokinin (CCK) induces short-lasting excitation in repetitive firing neurons of the rat nucleus tractus solitarius (NTS). *Neurosci. Res. Suppl.* 19: S76, 1994.

44) Takagi H, Kubota Y, Mori S, Tateishi K, Hamaoka T and Tohyama M: Fine structural studies of cholecystokinin-8-like immunoreactive neurons and axon terminals in the nucleus of tractus solitarius of the rat. *J. Comp. Neurol.* 227: 369-379, 1984.

45) Talman WT, Andreasen K, Calvin J and Eversmann-Johanns S: Cholecystokinin in nucleus tractus solitarii modulates tonic and phasic gastric pressure. *Am. J. Physiol.* 261: R217-R222, 1991.

46) Vaderhaeghen JJ, Lotstra F, De Mey J and Gilles C: Immunohistochemical localization of cholecystokinin and gastrin-like peptides in the

brain and hypophysis of the rat. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77: 1190-1194, 1980.

47) Wang YT and Bieger D: Role of solitary GABAergic mechanisms in control of swallowing. *Am. J. Physiol.* 261: R639-R646, 1991.

48) Yamazoe M, Shiosaka S, Shibasaki T, Ling N, Tateishi K, Hashimura E, Hamaoka T, Kimmel JR, Matsuo H and Tohyama M: Distribution of six neuropeptides in the nucleus tractus solitarii of the rat: an immunohistochemical analysis. *Neuroscience* 13: 1243-1266, 1984.

(Received for publication January 13, 1995)