

C-15 神経活動依存性及び非依存性神経伝達物質遊離に対するカルシウムイオンチャネルの効果の検討

弘前大学医学部神経精神科

○岡田元宏, 村上拓也, 河田祐子, 水野和久,
和田一丸, 兼子 直

【緒言】グルタミン酸 (GLU) 遊離は少なくとも、initial transient rise (ITR), late gentle rise (LGR), late multiple phasic rises (LMPRs) の 3 相により構成される。昨年度 LMPRs はてんかん発作、片頭痛の aura の発現機序として注目されている spreading depression (SD) により誘発される可能性を報告し、抗てんかん薬 zonisamide (ZNS), carbamazepine (CBZ) は、これらの GLU 遊離相を抑制することも報告した。本研究では、新たな、てんかん発作抑制方法開発を目的に、in vivo microdialysis glutamate biosensor を用いて、K⁺誘発性 GLU, monoamine (MA), adenosine (AD), NADH の細胞外濃度増加に対する N-, P-, Q-type Ca²⁺ channel 阻害薬の効果と比較検討することで、SD 誘発性 LMPRs 抑制機序解明を試みた。

【方法】1 μ M の ω -conotoxin GVIA (GVIA), ω -agatoxin IVA (IVA), ω -conotoxin MVIIC (MVIIC) を透析液に溶解灌流し、50 あるいは 100 mM K⁺灌流刺激に対する効果を検討した。細胞外 GLU 濃度は microdialysis electrode で、回収した probe 灌流溶液を用いて MA 濃度を ECD-HPLC で、AD 濃度は UV-HPLC で、NADH 濃度は fluorescence-HPLC system でそれぞれ測定した。

【結果及び考察】50 mM K⁺灌流刺激では LMPRs は観察されず、IVA, MVIIC は GLU, MA, AD の遊離を有意に抑制したが、GVIA では効果がなかった。しかし、100 mM K⁺灌流刺激により LMPRs は生じ、IVA, MVIIC は GLU, MA, AD 遊離に対する効果はなかった。一方、基礎遊離、50 mM K⁺灌流刺激による遊離量を測定できなかった NADH は 100 mM K⁺灌流刺激では測定可能であったが、これに対して IVA, MVIIC は効果を示さなかった。以上の結果より、SD は少なくとも、生理的環境下で生じる神経伝達物質の開口分泌とは異なる機構を介した遊離であると示唆される。しかも、細胞間隙内には存在しないと考えられている NADH が SD 誘発時にのみ測定可能であったことから、SD は神経細胞の構造的な破綻により生じる現象である可能性もあり、ZNS, CBZ の LMPRs 抑制効果は、抗てんかん作用のみならず、神経細胞保護作用をも説明するものと考えられる。

C-16 ラット海馬 K⁺刺激性 Ca²⁺細胞内流入及び serotonin (5-HT) 遊離に対する Valproate (VPA) の効果

弘前大学医学部神経精神科

○村上拓也, 岡田元宏, 河田祐子, 水野和久,
和田一丸, 兼子 直

【緒言】分子生物学的検討から、K⁺チャネル機能低下がてんかん発作発現に関与する可能性が報告され、Ca²⁺の細胞内流入が神経伝達系機能を規定することも知られている。VPA の抗てんかん作用発現機序として T-type Ca²⁺チャネル抑制作用、及び K⁺コンダクタンス抑制作用が報告されている。今回は、VPA の抗てんかん作用発現機序解明を目的に、K⁺刺激による Ca²⁺細胞内流入、及び 5-HT 遊離に対する VPA の効果を検討した。

【方法】雄性 Wistar 系ラットの海馬脳スライス (350 μ m) を作成し、Ca²⁺を Fura2/AM で染色後、ARGUS-50 (浜松ホトニクス) を用いて画像化し、細胞内 Ca²⁺濃度を測定した。灌流液には人工脳脊髄液 (ACSF) を用い、50 及び 100mM K⁺含有 ACSF 灌流刺激による Ca²⁺細胞内流入に対する VPA 効果を検討した。50 及び 100mM 灌流 K⁺刺激による 5-HT 遊離に対する VPA の効果の検討には in vivo microdialysis ECD-HPLC system (EICOM) を用いた。

【結果】VPA は 50 及び 100mM K⁺灌流刺激による海馬 5-HT 遊離を抑制した。一方、50mM K⁺灌流刺激では、緩徐な単一相の細胞内 Ca²⁺濃度の増加のみが観察されたが、100mM K⁺刺激では初期増加相と、これに続く緩徐な増加相が観察された。VPA は、これらの K⁺刺激による細胞内 Ca²⁺濃度増加を、濃度依存性に抑制した。

【考察】K⁺刺激により脱分極が生じ、これに伴った電位依存性 Ca²⁺チャネルの開口により各種神経伝達物質の遊離が生じる。また、遊離された神経伝達物質の中でアセチルコリン (ACh)、グルタミン酸 (GLU) は受容体を介したシナプス後細胞の Ca²⁺流入をもたらすものと考えられている。本研究結果は、K⁺刺激により生じる細胞興奮性のシナプス終末への伝達を VPA が抑制する可能性を示している。また、P/Q-type Ca²⁺チャネルが K⁺刺激性 MA 遊離を規定している可能性を我々は既に報告しており、VPA の K⁺刺激性 5-HT 遊離抑制作用は VPA の P/Q-type Ca²⁺チャネル機能抑制作用を介した可能性も示唆する。

C