

A-17 ゾニサミド (ZNS) の標的蛋白の検索: synprint 機能的複合体仮説に基づく検索

¹弘前大学 医学部 神経精神医学講座、²シバタバイオテック 神経科学研究所

吉田 淑子^{1,2}、岡田 元宏¹、朱 剛¹、兼子直¹

【緒言】 神経伝達物質開口分泌は、電位依存性カルシウムチャネル (VSCC)・SNARE 蛋白・蛋白リン酸化酵素 (PK) の synprint 機能的複合体により形成され、基礎遊離制御機構 N-VSCC/PKC/syntaxin を ZNS が機能亢進し、脱分極性遊離制御機構 P-VSCC/PKA/synaptobrevin を両剤は抑制することを明らかにしてきた。しかし、ZNS の標的蛋白の同定は未だ解明されていない。【方法・結果】 雄性 Wistar 系ラットに ZNS (0、20、50、100 mg/kg) を腹腔内投与し、投与 2 時間後ラット海馬を摘出し、synprint 蛋白量を Western Blotting 法を用い比較検討した。ZNS は SNARE (syntaxin, SNAP-25, synaptotagmin, synaptobrevin)、VSCC (N-VSCC, P-VSCC)、PKA (C, R1A, R1B, R2A, R2B) の発現に効果がなかった。有効濃度の ZNS は PKC (alpha, beta, gamma) を増加し、この酵素活性をも亢進していた。【考察】 有効濃度の ZNS が PKC 発現を亢進し、酵素活性をも同時に亢進することから、本研究結果は、ZNS の抑制性神経伝達物質基礎遊離制御機構である N-VSCC/PKC/syntaxin 複合体機能亢進の標的蛋白が PKC である可能性を示唆する。しかし、投与 2 時間での 10% 程度と軽微な増加であることから、むしろ酵素活性亢進が主要機序である可能性が高い。今後、この効果が慢性投与においても持続するか否か、そして mRNA 発現を介した増加か否かを継続して検討する必要がある。

A-18 クロバザム慢性投与によるグルタミン酸トランスポーターの発現変化

¹宮崎医科大学 医学部 精神医学講座

土井 拓¹、徳丸 潤¹、植田 勇人¹

抗てんかん剤の慢性投与によって、グルタミン酸シナプス伝達に関与する蛋白に何らかの発現修飾がもたらされ、抗けいれん効果が誘導されているという仮説に基づき、てんかんモデル動物にクロバザム (Clobazam; CLB) の慢性投与を行い、グルタミン酸トランスポーターの発現変化を検討した。【方法】 Wistar 系雄性ラットの右扁桃体に 100 mM、FeCl₃ 水溶液、または pH 2.2 の 0.9% NaCl 水溶液を 1.0 μl を注入し、その注入 15 日目から 1 日 1 回 CLB (0.5% methyl cellulose 水溶液に懸濁、10 mg/kg) あるいは 0.5% methyl cellulose 水溶液を腹腔内投与した。各操作の違いにより実験群を設定した。即ち、FC 群; 扁桃体へ FeCl₃ を注入し腹腔内に CLB を投与、FV 群; 扁桃体へ FeCl₃ を注入し腹腔内に vehicle のみを投与、CC 群; 扁桃体へ NaCl 水溶液を注入し腹腔内に CLB を投与、CV 群; 扁桃体へ NaCl 水溶液を注入し腹腔内へ vehicle のみを投与の 4 群である。扁桃体注入 28 日目に各群のラットの両側海馬を摘出し、Danbolt らの方法を用いて膜分画を抽出し、SDS-PAGE 上に展開。その後ニトロセルロース膜に転写し、抗 EAAC1、GLT1、GLAST 抗体を用いて western blotting を行った。【結果】 両側海馬で EAAC1 は CLB 投与による有意な変化はなかった。左海馬 GLT1 は FC 群で CV 群、FV 群と比較して有意な増加がみられた。GLAST は右海馬で CV 群と比較して FV 群で有意に低下していた。FV 群と FC 群との比較では右海馬 GLAST の発現に有意な差はないものの上昇傾向がみられた。【結語】 CLB はグリア型グルタミン酸トランスポーターの発現を増加させ細胞外グルタミン酸濃度を低下させることが抗てんかん作用を示す一つの作用機序ではないかと考えた。