

II - A - 5

和漢薬の脳機能障害改善効果に関する薬理

作用機序の検討(II) ; Gln合成酵素保護作用

東京医科大学 薬理学教室

渡辺泰雄、○劉 紀莎、渋谷 健

[目的]脳機能障害の一因として神経間隙における興奮性アミノ酸(グルタミン酸;Glu)の過剰量が報告されている。一方、神経伝達物質としてのGluのグリア細胞への取り込み、さらにglutamine(Gln)合成酵素による代謝はGlu代謝調節系の中で重要な要素の一つであることは知られている。すなわち、Gln合成酵素の賦活あるいは保護作用を有する和漢薬は細胞機能障害の予防あるいは改善効果を有することが期待される。本研究は、Gln合成酵素阻害薬に対する拮抗作用を指標として各種和漢薬の中樞薬理作用機序の一端を明らかにすることを目的とした。

[方法] A)培養小脳顆粒細胞の作製：8日令ラットの小脳を摘出して顆粒細胞を分取後37°Cで一定条件下(Air95%およびCO₂5%)で7-8日間培養した。さらに、共存するグリア細胞数を調節するため培養開始16時間以内にAra-C添加群(グリア細胞の少ない群)とAra-C未添加群(グリア細胞の豊富な群)との二群に分類した。B)Gln合成酵素活性の測定：Sher and Hu、あるいはKulka等の方法を応用し、glutamyl- γ -hydroxamateの1 μ molをGln合成酵素の1unitとして計測する。C)薬物：使用した和漢薬(丹参、当帰、川芎)は、すべて注射用製剤をKrebs-HEPES緩衝液(pH7.4)にて希釈し使用した。Gln合成酵素阻害薬であるmethionine sulfoximine (MSO)は適用後30分間のインキュベーションを行い酵素活性阻害作用を検索した。

[結果および考察]A)MSOのGln合成酵素阻害作用；グリア細胞の少ない群におけるGln合成酵素活性は、 0.84 ± 0.25 (mean \pm SD) μ mol/hrであり、グリア細胞の豊富な群では 1.38 ± 0.35 μ mol/hrであった。一方、MSOを5, 50, 500 μ M、それぞれ添加した群は前者で34.3%, 18.6%, 7.83%であり、後者では18.7%, 7%, 4.33%の阻害効果が認められた。B)和漢薬単独投与によるGln合成酵素への影響；MSOによるGln合成酵素活性阻害効果に対する和漢薬の抑制作用を検索するため、Gln合成酵素活性に影響を及ぼさない単独適用の最大用量を調べた。結果として、丹参では1.8mg/ml、当帰では0.5mg/ml、川芎では0.8mg/mlであることが判明した。C)MSOのGln合成酵素阻害作用に対する和漢薬の抑制効果；MSOを5 μ Mで30分間インキュベーションした時の酵素活性を指標として、各種和漢薬とMSOとの同時適用群、あるいは30分前投与群との二群間で抑制効果を比較検索した。MSO同時適用群はいずれもMSO単独適用群と有意差が認められなかったが、川芎および当帰の30分前適用群はMSOのGln合成酵素阻害作用に対して明らかな抑制作用が確認され、しかもこれらの作用はグリア細胞の豊富な群でより明確であった。

以上の成績から、和漢薬の脳代謝改善作用機序の一つとしてGln合成酵素保護作用が示唆された。