1PA109

神経伝達物質の電子状態

小田井 圭, 杉本 徹^A, 伊藤 悦朗^B
(^A湘北短大電情, ^B関東学院大工^A, ^B北大理院生物科学^B)

γ -アミノ酪酸 (GABA) とグルタミン酸 (Glu) は代表的な神経伝達物質である。GABA は動物の脳内や植物中に見いだされるアミノ酸の一種であり、抑制性の神経伝達物質として働く。GABA の受容体 (GABA_A 受容体) は五量体からなる Cl⁻ チャネルを形成している。一方、動物の脳内遊離アミノ酸として存在するグルタミン酸は興奮性の神経伝達物質として作用する。この受容体は、グルタミン酸の結合により一価の陽イオンに対する透過性をもつチャネルである。この2つの神経伝達分子は構造上非常に似ているにもかかわらず、このように正反対の作用を引き起こす。2つの分子の違いはカルボキシル基 (COOH) が1つ多く持つかどうかである。2つの分子を、各受容体の binding site がどの様に認識し区別しているかについてはまだ理論的に明らかにされていない。binding site の分子認識には個々の分子の大きさも大切であるが、伝達物質と受容体の binding site にあるアミノ酸残基との電気的相互作用が最も重要なファクターであると考えられる。

本研究は、そのメカニズムを分子レベルで理論的に解明することを目的としている。本発表においては、その準備として、まず GABA とグルタミン酸のモデル設定を行なう。一般的に、pH=7 付近においてはカルボキシル基は脱プロトン化 (COO⁻) し、アミノ基はプロトン化 (NH₃⁺) していると考えられている。その時の安定構造を非経験的分子軌道法 (*ab initio*) により求め、その構造 (形状) 及び電荷分布を検討する。また、カルボキシル基やアミノ基がイオン化していないモデルについても計算を行ない、その可能性についても検討したい。最後に、蛋白質との相互作用を考える上で必要となる静電ポテンシャルやダイポールモーメントについても求めたので、主に両分子の違いを比較し報告する。

K.Odai, T.Sugimoto, E.Ito:
Electronic States of Neurotransmitters

1PA111

ラット海馬の N-methyl-D-aspartic acid(NMDA) 刺激による神経ステロイド生合成の増強作用

○太田陽一郎、木本哲也、釣木澤朋和¹、川戸佳
(¹東大院・広域・生命、¹東大院・理学系・物理)

硫酸プレグネロン (PREGS) は記憶・学習能を上げることや海馬神経細胞の NMDA 受容体 (グルタミン酸受容体) を介した Ca²⁺流入を増強することで知られる神経ステロイドである。今回、我々はラット海馬に於いて PREGS が生合成されていることをラジオイムノアッセイ (RIA) によって明らかにした。

12 週齢の雄のウィスター・ラットの海馬及び血中の PREGS 濃度を RIA で測定した。その結果、海馬組織の PREGS 濃度は血中に比べて 10 倍以上大きいことがわかった。また、ラット海馬に対する NMDA 刺激が PREGS 合成に与える効果を検討するために、海馬を NMDA (100 μ M) で刺激した。NMDA で刺激した海馬に於いては、刺激する前の海馬に比べて PREGS 量が2倍以上に増大することを発見した。

以上の結果から海馬に於いては神経細胞がグルタミン酸刺激に対して PREGS を産生し、その PREGS が神経細胞自身のシナプス伝達を増強するという正のフィードバックが働いていることが示唆される。

Y. Ohta, T. Kimoto, T. Turugizawa, S. Kawato :
Potentiation of neurosteroid synthesis by N-methyl-D-aspartic acid(NMDA) stimulation in the rat hippocampus

1PA110

海馬ニューロンのNMDA受容体を介したカルシウム信号に対するステロイド急性効果

○高橋泰城¹、木本哲也¹、高田剛雄¹、山口和彦²、川戸佳¹、(¹東大院・広域・生命物理、²杏林大・医学部・第二生理)

近年、ラットをもちいた個体レベルの研究で、さまざまなステロイドが空間的な記憶学習能に影響することが分かってきたが、その神経機構には未知のことが多い。その解明のため、我々はステロイドが、神経細胞のカルシウム信号、NO信号を制御する機構や、それによる神経細胞の機能変化について研究している。

海馬ニューロンのNMDA受容体は、グルタミン酸の結合によってカルシウムイオンを流入させ、長期増強をひき起こし、これが空間的な記憶・学習の神経機構であると考えられている。神経ステロイドの一種、硫酸プレグネロンは、10-20分の急性インキュベーションによりNMDA受容体のCa流入量を瞬間的に増やすが、1分程度で細胞内Ca濃度はもとの低い状態に戻る。一方、ストレスステロイドのコルチコステロンは、10-20分の急性インキュベーションにより、NMDA刺激によって誘起されるカルシウム濃度上昇を高い値に固定してしまうことが分かった。この高濃度カルシウムにより、神経細胞のミトコンドリアの膜電位差が失われ、神経細胞にダメージを与えてしまうことがわかった。

また、このコルチコステロンの効果は、プロジェステロンの投与によって失われる事から、コルチコステロンは、NMDA受容体を介したCaを急性的に制御していることが確かめられた。

生後3～4日のラット脳より調整した海馬ニューロンに膜透過型のfura-2/AMやrhodamine123を負荷し、カルシウム信号、ミトコンドリア膜電位をビデオ顕微イメージングにより解析した。

acute effects of steroids on NMDA-induced Ca²⁺ signaling in hippocampal neurons

1PA112

新たな神経再生初期調節因子としての酸化型 Galectin-1

○堀江秀典¹、稲垣好昌²、相馬良明²、野沢りさ²、大川克也³、長谷川光広⁴、村松直樹⁴、川野 仁⁵、堀江正男⁶、小山洋道⁶、酒井偉久子¹、竹下歌織¹、小和田祐紀¹、高野雅彦⁷、門屋利彦² (横浜市大・医・¹生理、⁷眼科、²キリンビール医薬探索研、³キリンビール基盤技術研、⁴金沢大・医・脳外、⁵都神経研解剖発生、⁶横浜市大・看護短大)

腎由来株細胞 COS1 の培養上清中に神経線維束切断端からの神経再生促進する活性を見出した。培養上清を各種クロマトグラフィーにより活性因子を精製した。活性はSDS-PAGE で分子量約 14KDa のバンドと一致し、シークエンス分析の結果、Galectin-1 と同定した。還元状態でレクチン活性を示す Galectin-1 は神経再生促進作用は示さなかった。細胞外に分泌されると酸化され酸化型 Galectin-1 (GAL-1/Ox) となり、pg/ml オーダーの非常に低濃度で神経再生促進活性を示すことが明らかとなった。この GAL-1/Ox の生体中での神経再生を調節する機能を次の2種類のacellular神経損傷モデルを用いて検討した。1) 成熟ラットの坐骨神経凍結損傷による挫滅モデルと、2) 腓骨神経切断コラーゲンゲル充填シリコンチューブ縫合モデル。両実験の結果より GAL-1/Ox により神経再生が促進されること、その抗体により神経再生が強く抑制されることが判明した。GAL-1 の再生神経線維内での存在が証明されたことから、GAL-1/Ox は生体内で神経損傷後の初期再生調節因子として重要な役割を果たしていると考えられる。

H. HORIE¹, Y. INAGAKI², Y. SOHMA³, R. NOZAWA⁴, K. OKAWA³, H. HASEGAWA⁴, N. MURAMATSU⁴, H. KAWANO⁵, M. HORIE⁶, H. KOYAMA⁶, I. SAKAI¹, K. TAKESHITA¹, Y. KOWADA¹, M. T. KADOYA² :
Oxidized galectin-1 is a novel factor to regulate initial repair in peripheral nerves after axotomy