1G1345

長期増強に対する神経ステロイドとエタノールの相互作用

○城間 晋作、木戸 理恵、夏目 季代久、米谷 快男児（九工大・情報工・生化）

＜序＞神経ステロイド Dehydroepiandrosteron sulfate(DHEAS)は、NMDA-Ca チャネルからの Ca^{2+} の流入を増大させ、シナプス伝達効率を上昇させる。一方、エタノール (EtOH) は、NMDA-Ca チャネルからの Ca^{2+} の流入を抑制し、長期増強 (LTP) を抑制することが知られている。このように相反する作用を有する薬物を同時に投与した場合、シナプス可塑性はどのような影響を受けるかを調べる目的で実験を行った。

＜実験＞モルモット海馬スライスのシャーファー側枝系を刺激し、CA1 領域の放線層から pEPSP を測定した。LTP の誘導はテタヌス刺激 (100Hz, 1s) で行った。EtOH は 25mM、DHEAS は $25 \mu\text{M}$ の濃度で投与し、それぞれを単独で投与した場合と、同時投与した場合の LTP 増強度をコントロール状態での値と比較した。

＜結果と考察＞コントロール状態での LTP 増強度と比較すると DHEAS を単独投与した場合は LTP 増強度は増大し、EtOH の単独投与では LTP 増強度は減少した。DHEAS と EtOH を同時に投与すると、コントロール状態に比べて LTP 増強度は減少した。この状態での増強度は EtOH 単独投与での増強度とはほぼ同じであった。一方、DHEAS を先行投与し、その後に DHEAS と EtOH を同時投与すると、LTP 増強度は大きくなり、DHEAS 単独投与の状態での増強度とはほぼ同じ増強度が得られた。これらの結果は、DHEAS と EtOH は一連の LTP 誘導機構において、同じ機構に対して相反する作用を、排他的に発現することを示している。どの機構に作用しているかに関しては、個別の作用から考えて、NMDA-Ca チャネルからの Ca^{2+} の流入であると考えられるが、排他的に作用する原因は現在の所不明である。

S.Shiroma, R.Kido, K.Natsume, K.Kometani : Effects of neurosteroid and ethanol on long-term potentiation in hippocampal slices

1G1415

神経ステロイドによる海馬内シナプス応答の増強

○伊藤 立、田原 才静、夏目 季代久、米谷 快男児（九工大・情報工・生化システム）

＜序論＞昨年の本学会において神経ステロイド (DHEAS) は、シナプス後細胞の応答を増強することを報告し、この増強は後細胞の興奮性の増大が原因である可能性を示唆した。今回は、DHEAS による神経細胞の興奮性の増大に対する電位依存性 Ca チャネルと NMDA-Ca チャネルの寄与を調べた結果と、LTP による PS の増強機構と DHEAS による増強機構の関連性を調べた結果を報告する。

＜実験＞モルモット海馬スライスのシャーファー側枝を刺激し、応答を CA1 の放線層と錐体細胞体層から細胞外記録した。使用薬物：DHEAS ($10.25 \mu\text{M}$)、AP5 ($50 \mu\text{M}$)、nifedipine ($10 \mu\text{M}$)。LTP の誘導は θ -バースト刺激 (TBS) で行った。LTP の誘導前後に $25 \mu\text{M}$ MDHEAS を投与し、PS の大きさに与える影響を測定した。

＜結果及び考察＞ $10 \mu\text{M}$ MDHEAS を投与すると、EPSP は変化せず、PS は増強した。DHEAS と nifedipine を同時投与した結果は、DHEAS 単独投与の結果と差はなかった。DHEAS と AP5 を同時に投与すると、EPSP は変化しなかったが、PS は DHEAS 単独投与の場合より有意に小さかった。この結果は、DHEAS 投与による興奮性の増大は、NMDA-Ca チャネルからの Ca 流入が関与していることを示す。

LTP 誘導後に DHEAS を投与すると PS は増強した。その増強の程度は LTP 増強度が小さいほど大きかった。最大増強度の LTP 誘導後も DHEAS 投与により PS は増大した。この結果を DHEAS 投与後に最大増強度を与える LTP 誘導刺激をした結果と比較すると、最終的に到達する PS の大きさには有意差はなかった。この結果は、1) LTP と DHEAS による PS の増強は、NMDA-Ca チャネルからの Ca 流入という共通の機構が関与していること及び、2) DHEAS の場合は更に、反回性の抑制性シナプスの抑制による増強があるので、DHEAS 投与により飽和 LTP 以上の増強が生じることを示している。

T.Ito, S.Tahara, K.Natsume, and K.Kometani : Potentiation by neurosteroid of synaptic responses in the hippocampus

1G1400

ラット脳海馬におけるエストラジオール合成と神経情報伝達の作用

○服部 高明、高橋 泰城、川戸 佳（東大・大学院・広域科学専攻）

近年、女性アルツハイマー病患者へのエストラジオールの投与が痴呆改善に奏功するなど、記憶・学習の中枢である海馬とエストラジオールとの関係が注目を集めている。また、海馬自身が一部のステロイドを合成するとの報告も近年なされており、海馬の合成したステロイドが記憶・学習を増強しているという仮説が提唱されている。我々は、エストラジオール合成に関与するほとんどすべてのチトクロム P450 系の酵素の存在を海馬において証明しつつある。(1) 今回我々は、エストラジオール抗体を用いたラジオイムノアッセイによりラット脳海馬におけるエストラジオール合成能を定量した。オスラット脳海馬において、basal のエストラジオール濃度は血中の約 60 倍であった。また、海馬における記憶・学習に必要な不可欠な NMDA 型グルタミン酸受容体の選択的アゴニスト NMDA で海馬を刺激すると、エストラジオール濃度がほぼ 2 倍になることを発見した。一方、インターニューロンを除く海馬神経細胞にエストラジオールの核内受容体は発見されておらず、エストラジオールの海馬における作用機序はほとんど不明であった。(2) 我々は、エストラジオールの作用を調べるために、海馬神経培養細胞の細胞内カルシウム測定を行った。その結果、NMDA 刺激のみのときに比べて、エストラジオール ($10 - 50 \mu\text{M}$) を 30 分間作用させた後に NMDA 刺激すると、海馬神経細胞への Ca 流入量は増強された。コルチコステロンの NMDA 刺激時への効果と異なり、エストラジオールの効果は、数分以内に細胞内 Ca 濃度を元に戻す事がわかった。(3) エストラジオール ($1 - 10 \mu\text{M}$) のみの刺激を行った場合には、一分ほど続く Ca 信号が観察された。(2)、(3) の発見はともに、従来の常識であったステロイド核受容体を介した 5 時間～1 日かかる慢性的効果ではなく、細胞膜上の受容体を介した急性的効果である。

T.Hattori, T.Takahashi, and S.Kawato : Synthesis and action of estradiol in hippocampus

1G1430

海馬における硫酸プレグネノロンの長期増強への作用の解析

○釣木澤 朋和¹、長谷川 恭子¹、山口 和彦²、川戸 佳¹（¹東大・院・広域、²理研・脳研究センター）

海馬の CA1 領域では、記憶学習の基礎と考えられている、シナプス伝達の長期増強 (LTP) が生じる事が知られている。一方海馬錐体細胞には、コレステロールから神経ステロイドが合成されていることが、川戸研の研究で明らかになってきている。神経ステロイドが、シナプス伝達、さらには LTP の成立メカニズムに影響を及ぼしている様子を解析した。そこで、本研究では海馬スライスをを用いて、硫酸プレグネノロンの LTP 成立過程への影響について、細胞外電位を記録し解析した。4 週齢のラットの海馬スライス標本の Schaffer 側枝に比較的低頻度のテタヌス刺激 (30Hz, 1 秒, 1 回) を与え、CA1 領域錐体細胞の樹状突起に Schaffer 側枝がシナプスを形成する網状層で、細胞外電場電位記録を行った。30Hz、0.5 秒、1 回の刺激では、通常 25 分以上持続する LTP は生じにくい。硫酸プレグネノロン ($100 \mu\text{M}$) をテタヌス刺激 30 分前から作用させたところ、30Hz、1 秒、1 回の刺激でも、25 分以上持続する LTP が生じることが多い傾向が見られ、増強率は 224 % であった。また、 Mg^{2+} 非存在下で硫酸プレグネノロンを作用させると、1、陰性波の振幅が増大する、2、下降相の時間経過が延長する、と言った変化が見られた。特に遅い成分の増加が見られた。これらの結果から、硫酸プレグネノロンが NMDA 受容体に作用することにより、NMDA 受容体の開口確率を上昇させ、細胞内への Ca^{2+} 流入を増加させて LTP の誘導を促進する可能性が示唆された。

T.tsurugizawa, K.Hasegawa, K.Yamaguchi and S.Kawato : Effect of Pregnenolone Sulfate on LTP in the Hippocampus