3L1615

ラット海馬における神経ステロイド合成機構の研究

○北條 泰嗣, 木本 哲也, 川戸 佳 (東大院 広域 生命物理)

神経ステロイドは、脳内で合成されるステロイドであり、グルタミン酸レセプターなどの膜レセプターに作用して、記憶と学習の効率に影響を及ぼすことが知られている。しかし、神経ステロイドの合成機構については、ほとんど解明されていなかった。これまで、本研究室では、コレステロールからプレグネノロン (PREG) 及び硫酸プレグネノロン (PREGS) を合成する酵素である、チトクロム P450_{scc} および Hydroxysteroid Sulfotransferase がラット海馬神経細胞に局在していることを、ラジオイムノアッセイ (RIA) 及び免疫組織染色によって明らかにした。今回、これまでと同じくラット海馬を用いて PREG から Dehydroepiandrosterone (DHEA) を合成する酵素である P450_{c17} の局在を調べ、脳内における DHEA の合成機構を研究した。本研究では、生後 3ヶ月の雄の Wistar ラットから取り出した海馬を使用した。Western blot の結果、ラットの P450_{c17} タンパク質の分子量である 66kDa のシングルバンドが検出され、ラットの海馬に P450_{c17} タンパク質が存在することがわかった。更に、海馬の凍結切片を免疫組織染色した結果、海馬錐体神経細胞層及び、歯状回の顆粒神経細胞層が染色された。これまで、神経ステロイドの合成はグリア細胞が行っていると考えられてきたが、これまでに本研究室で得た P450_{scc} および Hydroxysteroid Sulfotransferase の結果と今回の P450_{c17} に関する結果から、神経ステロイドの合成は、主として神経細胞において行われていることが強く示唆される。

Y.Hojo, T.Kimoto, S.Kawato : Study of neurosteroid biosynthesis mechanisms in rat hippocampus

3L1630

海馬における神経ステロイド合成制御様式の検討

○木本 哲也, 上村 貴広, 太田 陽一郎, 釣木澤 朋和, 牧野 純也, 川戸 佳 (東大・院総合・広域・生命物理)

神経ステロイドである硫酸プレグネノロン (PREGS) は、グルタミン酸など神経伝達物質の受容体を介した Ca^{2+} 流入の増強を通じて、記憶/学習効率を急性的に調節すると考えられている。しかし、神経ステロイドの合成制御機構は現在までほとんど解明されていない。我々は最近、海馬の NMDA 型グルタミン酸受容体を刺激すると、 Ca^{2+} 依存的に神経ステロイド合成が増加することを発見した。そこで本研究では、ステロイド合成の律速段階であるステロイド合成急性調節タンパク質 (StAR) によるチトクロム P450_{scc} への基質コレステロールの供給過程に対する、NMDA の作用を検討した。12週齢オス Wistar ラットの脳より調製した海馬を用い、StAR 量をウェスタンブロットで検討した。無刺激時では、海馬の StAR は 37kDa の全長型としてミトコンドリア外膜に存在した。海馬を $100 \mu\text{M}$ NMDA で刺激すると、StAR はミトコンドリア内膜に移行し、プロセッシングを受けて 30kDa の成熟型 StAR が出現した。NMDA 刺激による 30kDa StAR の出現は、NMDA 受容体の特異的阻害剤 MK-801 で抑制された。NMDA で刺激した際には、ミトコンドリア外膜のコレステロール量が減少し、内膜では増加することも観察された。副腎皮質などの末梢ステロイド産生細胞では、StAR は全長型として合成されるが不安定で、プロセッシングを受けた 30kDa StAR が安定に存在する。しかし海馬では StAR が全長型として安定に存在することから、コレステロール輸送様式が末梢と異なることが示唆された。我々は以前、海馬神経細胞に PREGS 合成酵素群が全て存在することを示した。よって、NMDA 受容体活性化と神経細胞の Ca^{2+} 上昇 → StAR による P450_{scc} への基質供給増加 → PREGS 産生増加 → NMDA 受容体への PREGS の結合 → Ca^{2+} 流入の増強、という信号増幅機構が示唆された。

T. Kimoto, T. Kamimura, Y. Ohta, T. Tsurugizawa, J. Makino and S. Kawato : Study on the regulation mechanisms of neurosteroidogenesis in the adult rat hippocampus