3P237

ラット脳海馬におけるストレスステロイド合成機構の解析

○園木 康大^{1,2}、石井 寛高^{1,2}、古川 愛造³、川戸 佳^{1,2} (¹ 東大院・総合文化・広域・生命環境系、² 科学技術振興機構・戦略的創造研究推進事業 CREST、³ 国立久里浜病院)

従来の神経内分泌学ではストレスステロイドは副腎皮質で合成され脳に到達して働くと考えられている。一方我々は海馬自身がストレスステロイドを合成していることを示す為に研究を進めている。本研究では成獣雄ラットの海馬を用いてストレスステロイドの合成に関与する酵素について RT-PCR 法と Southern blotting 法を用いて発現解析を行った。その結果ステロイド合成の最初の基質となるコレステロールからプレグネノロンを代謝する P450_{scc}、プレグネノロンからプロゲステロンを代謝する 3 β -Hsd、プロゲステロンからデオキシコルチコステロンを代謝する P450_{2D4}、デオキシコルチコステロンからストレスステロイドを代謝する P450_{11 β} がそれぞれ海馬で多く発現していることがわかった。またストレスステロイドの受容体についても同様に発現解析を行ったところ海馬で多くの発現が見られた。また免疫抗体染色によってこれらの受容体が海馬神経細胞に局在していることがわかった。さらに HPLC と質量分析器を用いたステロイド代謝量測定実験では成獣雄ラットの海馬でストレスステロイドの中間生成物であるデオキシコルチコステロンとストレスステロイドの合成がされていることがわかった。海馬でのストレスステロイドの効果については遺伝子発現を伴うような遅い効果の他に遺伝子発現を伴わない急性的な効果があることが知られているが、これらの結果からこれまで不明であった急性的な効果の作用機構を海馬が新規に合成するストレスステロイドが担っていることが示唆される。

Y Sonoki, H Ishii, A Hurukawa and S Kawato : The analysis of stress steroid biosynthesis in rat hippocampus

3P239

代謝調節型グルタミン酸受容体依存性長期抑圧に対するアラキドン酸およびその代謝産物の関与

○城間 晋作、米谷 快男児 (九工大 情報工 生命情報)

<序> 昨年の年会で、group I の mGluR のアゴニストである DHPG 投与による長期抑圧 (DHPG-LTD) の誘導は、逆行性メッセンジャーが関与しその候補物質はアラキドン酸 (AA) であることを報告した。しかし、AA 自体がメッセンジャーとして作用するのがあるいは、その代謝産物が作用するのかは明らかではない。本研究は DHPG-LTD の誘導において、逆行性メッセンジャーとして作用するのは AA もしくはその代謝産物のどちらであるかを明らかにすることを目的とする。

<方法> ラット (4-6w) 海馬スライスの CA1 放線層から EPSP を細胞外記録した。AA および AA 代謝抑制剤の投与によるシナプス応答の変化を調べた。また AA 代謝抑制剤の存在が DHPG-LTD 誘導に与える効果を調べた。

<結果・考察> AA を投与すると EPSP は大きくなり、シナプス応答は増強した。AA は大別して lipoygenase (LO) と cyclooxygenase (COX) による 2 つの経路で代謝される。この 2 つの経路のうち LO を抑制した状態で AA を投与すると、EPSP は小さくなり LTD が誘導された。この LTD はシナプス前細胞からの伝達物質放出量の減少を伴っていた。LO と COX の両方を抑制した状態で AA を投与しても EPSP の大きさに変化は生じなかった。以上の結果は、AA はそれ自体ではシナプス応答に影響を与えないが、LO による代謝産物がシナプス応答を増強し、COX による代謝産物がシナプス応答を抑制する可能性を示す。これらの結果は DHPG-LTD 誘導における逆行性メッセンジャーは COX による代謝産物である可能性を示唆している。この可能性を確かめるため、LO 抑制剤あるいは COX 抑制剤の存在下で DHPG-LTD の誘導実験を行っているので、結果をあわせて報告する予定である。

S. Shiroma and K. Kometani : Role of arachidonic acid and its metabolites in the induction of DHPG-induced long-term depression.

3P238

コルチコステロンがマウス脳海馬におけるカルシウム信号に与える影響 (II)

○小山内 裕美¹、佐藤 了¹、荒川 斉仙¹、門間 俊博¹、平野 愛弓¹、斎藤 稔¹、川戸 佳² (¹ 日大院・総合基礎科学・相関理化学、² 東大院・総合文化・広域科学)

我々はこれまでにマウスの海馬スライスをを用い、コルチコステロン (CORT) が CA1 領域において NMDA 刺激による細胞内 Ca²⁺ 流入を急性的に抑制することを示した (第 41 回年会講演予稿集 B862)。しかしながら、この Ca²⁺ 流入が NMDA 受容体を介する直接的なものであるか、またはそれに伴う活動電位の発火によって引き起こされる間接的なものであるのか、そして CORT がどちらの Ca²⁺ 流入成分に影響を与えるかを明らかにすることはできなかった。本研究ではこれらの点を明らかにする為、TTX で活動電位の発火を阻害した上で細胞内 Ca²⁺ 流入に対する CORT の影響を調べた。実験には 7 週齢の ddY クリーンマウスより調整した厚さ 300 μ m の海馬スライスをを用いた。このスライスを 30 分間 CORT でインキュベーションした後、1 mM の NMDA で刺激した時の細胞内 Ca²⁺ 信号を Fura-2/AM を用いた Ca²⁺ イメージングで測定した。その際、測定 10 分前から TTX でインキュベーションすることにより活動電位の発火を阻害しておいた。結果として、CA1 領域では control (CORT・TTX インキュベーション無し) と比較して、TTX により活動電位の発火を阻害した場合には Ca²⁺ 信号が 47% に減少した。このことから、CA1 領域では NMDA 刺激による細胞内 Ca²⁺ 流入の約半分が NMDA 受容体を介する直接的なものであることが分かった。次に TTX により活動電位の発火を阻害した上で細胞内 Ca²⁺ 流入に対する CORT (10 μ M) の影響を調べたところ、Ca²⁺ 信号が 44% 増加した。このことから、CORT は NMDA 受容体を介する細胞内 Ca²⁺ 流入をむしろ増加させることが分かった。そして、細胞内 Ca²⁺ 流入に対する CORT の抑制作用は、間接的な成分への作用によるものであることが示唆された。

H. Osanai, S. Sato, Y. Arakawa, T. Monma, A. Hirano, M. Saito and S. Kawato : Acute effect of corticosterone on *N*-methyl-D-aspartate receptor-mediated Ca²⁺ elevation in mouse hippocampal slices

3P240

時間認識におけるサル前頭前皮質の神経機構

○生塩 研一、千葉 惇、稲瀬 正彦 (近大医・第 1 生理)

我々は時間認識の脳内機構を理解するため、サルに時間弁別課題を与え、その課題遂行中に前頭前皮質の単一ニューロン記録実験を行った。我々の時間弁別課題では、呈示時間が異なる 2 つの視覚刺激 (赤と青の四角形; 1 番目を C1、2 番目を C2 と呼ぶ) を引き続いて示した後、その 2 つの視覚刺激を左右に並べて同時に示し、呈示時間が長い方を選択させた。視覚刺激の呈示時間 (200-1600ms)、長短の順序、そして赤青の順序は各試行で変えた。また、各視覚刺激 C1 と C2 の後には遅延期間 (それぞれ、D1、D2) を設けた。実験で得られた前頭前皮質ニューロンの神経発火データについて、視覚刺激呈示期間と遅延期間において、C1 が長い試行と C2 が長い試行と間で発火頻度の異なるニューロンがあることを見出した。あるニューロンは、C1 と C2 のいずれが長いかに関係なく、C1 の開始から一定時間の後 (C1 が長い試行では C1 期間中、C2 が長い試行では C1 の後の遅延期間 D1 中) にバースト的な発火頻度上昇を示した (閾値ニューロン、と呼ぶ)。また別のニューロンは、C1 が長い試行では C1 の後半期間に、C2 が長い試行では C2 に発火頻度上昇を示した。我々の結果から、サルは C1 において C1 が長いかどうかの判断をある程度しており、大脳の前頭前皮質では、C1 が長いかどうかを判断する基準を閾値ニューロンが与え、それを受けて各試行で長い方の視覚刺激をコードすることが示唆される。

K. Oshio, A. Chiba and M. Inase : Neural mechanisms of monkey prefrontal cortex for time perception