第10回 日本臨床薬理学会 1989年11月14~15日 九段会館

Lithium carbonate の慢性投与のヒト血小板阻害性 GTP 結合蛋白に対する影響

渡辺 康裕^{*1} 森田 仁^{*2} 今泉 太郎^{*1}
武田 雅俊^{*2} 播口 之朗^{*2} 西村 健^{*2}
吉田 博^{*1}

リチウムは、そう鬱病の治療薬として臨床で使われているが、作用機序は未だ不明である。これまでに、リチウムは、アデニレートシクラーゼ活性に対する影響¹⁾、フォスファチジルイノシール代謝回転に対する影響²⁾、脳内カテコールアミン量に対する影響、脳内アミン合成に及ぼす作用、神経終末におけるアミンの貯蔵、不活化、放出、取込みに対する作用などが示唆されたが、最近、神経伝達物質受容体と関連する GTP 結合蛋白質に作用点があると示唆する報告がある³⁾。われわれも、ラット脳より精製した阻害性 GTP (Gi) 蛋白に、*in vitro* の系においてリチウムを加えると、百日咳毒素 (islet activating protein: IAP) による Gi 蛋白における ADP-ribosylation 量が減少することを報告した^{4,5)}。しかし、リチウム慢性投与が G 蛋白にどのような影響を与えるかは、未だ検討されていない。そこで、リチウム慢性投与の作用点を知るために、そう鬱病患者の血小板 40~41 k 蛋白 (おもに阻害性 GTP 結合蛋白-Gi) の百日咳毒素 (IAP) による ADP-ribosylation 量に対するリチウム慢性投与の影響を検討した。

方法: リチウム投与中 (600~800 mg/day) の 6 症例のそう鬱病患者 (28~67 歳) の血液 (リチウム血中濃度約 0.4~0.6 mEq/l) ①と、病状安定によりリチウム投与中止後、一定期間 (16~30 日)

を経た同一患者の血液②を採取した。患者には採血の同意を得た。患者へパリン加血液から血小板を単離し、低張処理後、triethanolamine HCl (TEA) 緩衝液 (10 mM, pH 7.4), EDTA 5 mM にて 2 回洗浄し、その膜分画ホモジネートを得た後、-80℃にて凍結保存した。IAP による ADP-ribosylation の観察は、ヒト血小板細胞膜分画ホモジネート (5 µg/100 µl) を、1 mM ATP, 10 mM thymidine, 1 mM EDTA を含む TEA 緩衝液 (50 mM, pH 7.4) 中で、1 µM ³²P-NAD, IAP (2 µg/100 µl) と 25℃で反応させ、反応停止後、Laemmli⁶⁾ の sample buffer に懸濁後、SDS-ゲル電気泳動後、オートラジオグラフィーを行った。デンシトメーター (島津 2 波長クロマトスキャナー, CS-930) を用いて、得られた 40~41 k 蛋白のバンドの吸光度 (area of band, densitometric unit) を測定し、IAP による Gi 蛋白の ADP-ribosylation 量を観察し^{7,8)}、リチウム慢性投与の効果を調べた。

結果: IAP によるヒト血小板膜分画 40~41 K 蛋白の ADP-ribosylation の反応は、本実験条件下では、反応時間約 90 分にてほぼ飽和に達したので、以下、反応時間は 90 分とした。ヒト血小板細胞膜ホモジネート 40~41 k 蛋白における ADP-ribosylation は、非水解性グアニンヌクレオチドである GTPγS (1~100 µM) 存在下減弱したので、主に Gi 蛋白であると考えられた。現在まで検討した 6 症例については、リチウム投与

^{*1} 大阪大学医学部第一薬理
〒530 大阪市北区中之島 4-3-57

^{*2} 同 精神神経科

Tab. 症例と百日咳毒素感受性・GTP 結合蛋白の ADP-ribosylation 量比

	性	年齢	血中 Li 濃度 (mEq/l)	Li ₂ CO ₃ 投与量 (mg/day)	Li 服薬中止後 の期間 (day)	ADP-ribosylation 量比 (Li 投与中/Li 中止後)
Exp. 1	F	28	0.4	600	28	0.63
Exp. 2	F	41	0.6	800	16	0.75
Exp. 3	M	42	0.5	600	21	0.61
Exp. 4	F	67	0.5	600	30	0.74
Exp. 5	F	35	0.6	400	27	0.81
Exp. 6	F	44	0.4	600	28	0.62
mean ± S. D.						0.70 ± 0.09

中の検体と、リチウム投与中止後、一定の期間を置いて採取した検体と比較すると、リチウム投与中止後の検体にて、IAP による血小板細胞膜ホジネート 40~41 k 蛋白 (Gi 蛋白) における ADP-ribosylation は Tab. に示すように有意の増加が観察された。六症例の IAP による ADP-ribosylation 量のリチウム投与中/投与中止後比を観ると約 0.6~0.8 の範囲であった。

考察：以上の結果は、連用投与されたリチウムが、血小板 Gi 蛋白に作用し、IAP による Gi 蛋白における ADP-ribosylation 量の変化を生じさせたことを示唆する。一つの可能性として Gi 蛋白の合成崩壊の変動による量的な変化が考えられる。Gi はそのサブユニットが三量体であるときにのみ、Gi 蛋白は IAP による ADP-ribosylation を受けるので、他の可能性として、Gi サブユニットの解離状態の変動を伴う Gi 蛋白の allosteric change による機能変化 (質的変動) をリチウム慢性投与が引き起こしているかもしれない。In vitro のリチウムの Gi の三量体の解離に対する作用は認められなかった⁵⁾ が、これらの Gi 蛋白

における変動は、生体膜における Gi 蛋白を介する神経伝達物質受容体と共役反応間の情報伝達に変化を生じさせる可能性があると考えられた。今後、同様の変化が脳内においても生じているか、否かの検討をする。

文 献

- 1) Ebstein, R., Belmaker, R.H., Grunhaus, L. et al.: *Nature*, **259**: 411-413. (1976).
- 2) Hallcher, L.M. and Sherman, W.R.: *J. Biol. Chem.*, **255**: 10896-10901. (1980).
- 3) Avissar, S., Schreiber, G., Danon, A. et al.: *Nature*, **331**: 440-442. (1988).
- 4) Kawamoto, H., Watanabe, Y., Imaizumi, T. et al.: *神経化学*, **27**: 28-29. (1988).
- 5) Watanabe, Y.: *Jpn. J. Pharmacol.*, **52**: 179-187 (1990).
- 6) Laemmli, U.K.: *Nature*, **227**: 680-685. (1970).
- 7) Watanabe, Y., Imaizumi, T., Misaki, N. et al.: Segawa, T., Endo, M., Ui, M. et al. (Ed.): *Physiology and Pharmacology of Transmembrane Signaling*, Excerpta Medica, Amsterdam, New York, Oxford, (1989).
- 8) Watanabe, Y., Imaizumi, T., Misaki, N. et al.: *FEBS Lett.*, **236**(2): 372-375. (1988).