

II D - 3

EI マウス脳内のNMDA-sensitive L-glutamate binding

京都大学医学部小児科

小黒克彦, O伊藤正利, 津田英夫, 武藤岸参, 白石英幸,
白坂幸義, 三河春樹

【目的】L-グルタミン酸 (glutamate) 及びL-アスパラギン酸は, 中枢神経系の興奮性神経伝達物質と考えられ, これらアミノ酸受容体の中でもN-メチル-D-アスパラギン酸 (NMDA) 受容体は, ヒトのてんかんあるいは記憶との関連が注目されている。今回, 我々は遺伝性てんかんモデル動物であるEIマウスを用いて脳内NMDA-sensitive L-glutamate bindingを測定し, NMDA受容体と痙攣感受性との関連について検討した。

【方法】生後4週から週1回放り上げ刺激を与え, 痙攣準備性を獲得した群 (EI (+)), 刺激を与えなかった群 (EI (-)) 及び対照群としてその母系マウス (ddY) を用いた。生後22-24週に断頭し, 全脳あるいは7部位に分け冷凍保存した。各々の検体から, 粗ソナプス膜を作成し, 以下の実験に供した。

binding assayは $[^3\text{H}]$ glutamateをリガンドとし, total bindingのうち 10^{-4}M NMDAでdisplaceableな部分をNMDA-sensitive L-glutamate bindingとした。全脳ではScatchard解析を行い最大受容体密度 (Bmax) 及び結合親和性 (Kd) を算出し, 各脳部位では 50nM $[^3\text{H}]$ glutamate における結合能を測定した。

【結果】全脳ではBmaxがEI (+): 2.52 ± 0.22 (pmol/mg protein), EI (-): 2.46 ± 0.04 でddYの 3.39 ± 0.45 に比べ各々有意に低下していた。Kdに有意差はなかった。部位別結合能では大脳皮質においてEI (+): 0.85 ± 0.08 , EI (-): 0.84 ± 0.04 でddY (1.12 ± 0.10) に比べ有意に低下していた。EI (+) とEI (-) 間では有意差は認めなかった。

【結語】EI系では大脳皮質において, NMDA受容体のdown-regulationがみられ, 痙攣閾値低下との関連が示唆された。今後, 痙攣誘発前後の経時的変化についても検討する予定である。

II D - 4

てんかん準備性及び痙攣発現機序に関する検討—神経ペプチド(ソマトスタチン, TRH)からみた検討—

奈良県立医科大学脳神経外科

○中瀬裕之, 多田隆興, 平林秀裕, 田中祥弘, 榊 寿右,
宮本誠司, 京井喜久男, 内海庄三郎

〔目的〕てんかん病態の解明・治療の両面から内在性てんかん因子として, 神経ペプチドが注目されている。臨床においては, 患者髄液中の神経ペプチドが測定検討され, 動物実験においては, その脳内変動が測定検討されているが, 髄液と脳内を同時に測定検討した報告はない。また, Kindling動物における神経ペプチドに関する報告はあるが, その発現段階における詳細な報告はみられない。今回我々は, てんかん準備性及び痙攣発現機序に関して, てんかんとソマトスタチン (以下SRIF) 及びTRHの関連を検討するため, 猫扁桃核Kindlingモデルにおける発現段階のSRIF, TRHを髄液内及び脳内で同時に測定し検討した。〔対象と方法〕雑種成猫25匹を使用, それらをcontrol群 (C群), sham operation群 (S群), Wada & Satoらの臨床段階に達したstage 4群 (S4群), 完成群で最終刺激後2日目 (S6-2d群) と2週間後 (S6-2w群) の各5匹5群に分けた。右側扁桃核に60Hz, 2相性矩形波, 2秒間, 1日1回刺激を行い, 各群とも, 最終刺激より2週間後, 完成群においては2日後および2週間後に採血, 及び大叢より髄液を採取し, その後氷上にて8脳部位を取り出し, RIA法によりSRIFとTRHを測定した。〔結果〕髄液SRIFは, C群に比し, S6-2d及びS6-2w群で有意な上昇がみられた。脳内SRIFでは, S6-2w群の両側扁桃核・梨状葉・海馬において, S6-2d群の両側扁桃核及び梨状葉・右海馬において有意に上昇していた。一方, 脳内TRHは, S6-2d群の両側扁桃核及び梨状葉, 右海馬において有意な上昇がみられた。髄液TRHは, 変動が激しく脳内と相関した値は得られなかった。〔結論〕猫扁桃核Kindlingモデルにおいては, SRIFはけいれん準備性獲得の完成維持に関与していることが推測され, 髄液SRIFは脳内SRIFの上昇を反映していた。一方, TRHは抗てんかん因子としててんかん発現性に関与していると推測され, 髄液TRHは, 脳内TRHとの相関は認められなかった。