



Post-inhibitory excitation of adenosine on neurotransmission in guinea pig hippocampal slices

西村, 俊二

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

1992-03-31

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲1110

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1001110>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



氏名・（本籍）	にし むら しゅん じ 西 村 俊 二 （兵庫県）
博士の専攻 分野の名称	博士（医学）
学位記番号	博い第802号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与の日付	平成4年3月31日
学位論文題目	Post-inhibitory excitation of adenosine on neurotransmission in guinea pig hippocampal slices (モルモット海馬切片におけるアデノシンの抑制後興奮作用)
審査委員	主査 教授 天津 睦 郎 教授 岡田 安 弘 教授 岡田 昌 義

論文内容の要旨

緒 言

アデノシン及びそのヌクレオチドは中枢神経系において、神経伝達を抑制する物質であると認められてきたが、最近我々によってアデノシンには投与濃度によって興奮と抑制の二相性の作用が在る事が明らかにされた。すなわち 10^{-9} ～ 10^{-6} Mの低濃度のアデノシンには興奮作用があり、 10^{-5} M以上の高濃度のアデノシンには抑制作用がある事を示す。しかもアデノシンを除去すると、抑制の後に神経伝達が促進される。抑制作用の機序については、伝達物質の放出の抑制、 K^{+} コンダクタンスの上昇などが明らかにされているが、この興奮作用の機序については十分な研究がなされていない。

本論文においてはアデノシンの興奮作用の機序を明らかにする目的で、特に高濃度のアデノシン投与でおこる抑制後興奮（Post-inhibitory excitation）に注目し、その機序がアデノシンの低濃度によっておこる興奮作用と同一機序でおこること、しかもその発現に Protein kinase C（PKC）が関与していることを明らかにした。

実験方法

体重（250～300g）のモルモットを用いた。断頭後、開頭して海馬をとりだして、顕微鏡下に（400～500 μ m）の厚さの組織切片を作用した。これを95%酸素、5%二酸化炭素とで飽和した Ringer 液中で培養した。観察用容器内に移して、顕微鏡下に海馬の穿通枝を双極電極で刺激し、顆粒細胞層からの場のシナプス後電位（集合電位：PS）をガラス電極で細胞外記録した。種々の薬物を培養液中に投与して、除去する場合には標準 Ringer 液で置換した。その間のシナプス後電位の変化を観

察した。電気刺激強度はシナプス後電位の大きさが最大値の $1/2$ となるように設定し、薬物の効果を観察した。

結 果

1 : アデノシンの興奮作用と抑制後興奮

低濃度 ($10^{-9} \sim 10^{-6} \text{M}$) のアデノシンを投与すると、シナプス後電位は徐々に増大した (25%)。15分以内に除去すると緩徐な経過でシナプス電位の振幅は元の大きさに戻った。アデノシンを30分以上投与した場合には、除去しても増大したシナプス電位の振幅は元の戻らず、アデノシンの興奮作用は不可逆的に残った。

高濃度 ($10^{-5} \sim 10^{-3} \text{M}$) のアデノシンを投与した場合には、シナプス後電位は強く抑制されるが、除去すると電位は増大して元の大きさよりも大きくなった (反跳現象) 後、徐々に元の振幅に戻る。高濃度のアデノシンを30分以上投与して、これを除去した場合には反跳現象で増大した電位はそのまま維持された。この現象を抑制後興奮 (Post-inhibitory excitation; PIE) と名づけた。

2 : アデノシン以外の抑制物質と低濃度のアデノシン

γ -aminobutyric acid (GABA) (10^{-3}M) や Pentobarbital (10^{-4}M) を単独に投与した場合には神経伝達は抑制されるのが認められたが、抑制後興奮は認められなかった。ところが GABA や pentobarbital に抑制を示さない低濃度のアデノシン (10^{-7}M) を同時に添加し、30分後に両者を除去すると抑制後興奮が認められた。

3 : PKC抑制薬の効果

低濃度のアデノシンの興奮作用によってシナプス後電位が増大している時に、PKC抑制薬である H-7, melittin, polymyxinB を投与すると、電位の振幅はアデノシンを加える前の大きさに減少した。さらに高濃度のアデノシンによって抑制後興奮が認められている時に、H-7 を投与するとシナプス電位は可逆的にアデノシンを加える直前の大きさに戻り、H-7 を除去するとシナプス電位は抑制後興奮が認められた振幅にまで増大した。

考 察

1 ; 高濃度のアデノシンによる抑制後興奮と低濃度のアデノシンの興奮作用は、アデノシン除去後もそれらの興奮作用が非可逆的に残る臨界時間が同じ30分であり、その興奮作用がいずれも PKC の抑制物質である H-7, melittin, polymyxinB によって可逆的に拮抗されたので、この2つの興奮作用は同一の機構によると考えられる。

2 ; GABA や pentobarbital は神経伝達に対して強い抑制作用を示すが PIE はおこさない。GABA あるいは pentobarbital と低濃度のアデノシンを同時に適用すると、高濃度のアデノシンにみられた抑制後興奮と類似した現象が認められた。従って、低濃度アデノシンの興奮機構は神経伝達を遮断した状態でも進行しており、抑制物質を除去すると隠されていた興奮作用が出現すると考えられた。

3 ; 高濃度アデノシンの存在下では、神経伝達は抑制されて観察できないが、この間にも抑制後興

奮の機構は進行しており、高濃度のアデノシンを除去することによって、隠されていた興奮作用が発現すると考えられた。即ち高濃度のアデノシンの投与中には、抑制作用と興奮作用の両方が働くが、抑制作用の方が強力であるために興奮作用が隠蔽されて観察できず、アデノシンを除去することによって、抑制がとれ、その間に進行していた興奮作用すなわちPIEが惹起されたものと考えられる。

結 語

高濃度のアデノシンに認められる抑制後興奮は、低濃度のアデノシンの興奮作用と同じであると考えられた。両者の興奮発現機構にはPKCが関与している。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

緒 言

アデノシンは中枢神経系において、神経伝達抑制物質であると認められてきたが、アデノシンには投与濃度によって興奮と抑制の二相性の作用が在る事が明らかにされた。すなわち $10^{-9} \sim 10^{-6}$ Mの低濃度のアデノシンには興奮作用があり、 10^{-6} M以上の高濃度のアデノシンには抑制作用がある。さらにアデノシンを除去すると、抑制の後に神経伝達が促進される。この興奮作用の機序については十分な研究がなされていない。本論文においてはアデノシンの興奮作用の機序を明らかにする目的で、その機序がアデノシンの低濃度によっておこる興奮作用と同一機序でおこること、しかもその発現にProtein kinase C (PKC) が関与していることを明らかにした。

実験方法

モルモットを用いた。断頭後、開頭して海馬をとりだして、顕微鏡下に約 $500 \mu\text{m}$ の厚さの組織切片を作成した。観察用容器内に移して、顕微鏡下に海馬の穿通枝を双極電極で刺激し、顆粒細胞層からの場のシナプス後電位をガラス電極で細胞外記録した。種々の薬物を培養液中に投与して、除去する場合には標準 Ringer 液で置換した。その間のシナプス後電位の振幅の変化で薬物の効果を判定した。

結 果

1 : アデノシンの興奮作用と抑制後興奮

低濃度 ($10^{-9} \sim 10^{-6}$ M) のアデノシンを投与すると、シナプス後電位の振幅は徐々に約25%増大した。15分以内に除去すると緩徐な経過で振幅は元の大きさに戻った。アデノシンを30分間以上投与した場合には、除去しても増大した振幅は元の戻らず、アデノシンの興奮作用は不可逆的に残った。

高濃度 ($10^{-9} \sim 10^{-6}$ M) のアデノシンを投与した場合には、シナプス後電位は強く抑制されるが、除去すると振幅は増大していったん元の振幅よりも大きくなった後、徐々に元の振幅に戻った。高濃度のアデノシンを30分間以上投与して、これを除去した場合には反跳現象で増大した電位はそのまま維持された。この現象を抑制後興奮と名づけた。

2 : アデノシン以外の抑制物質と低濃度のアデノシン

γ -aminobutyric acid (GABA) (10^{-3} M) や Pentobarbital (10^{-4} M) を単独に投与した場合には神経伝達は抑制されたが、抑制後興奮は認められなかった。ところがGABAや pentobarbital に抑制を示さない低濃度のアデノシン (10^{-7} M) を同時に添加し、30分後に両者を除去すると抑制後興奮が認められた。

3 : PKC抑制薬の効果

低濃度のアデノシンの興奮作用によってシナプス後電位が増大している時に、PKC抑制薬である H-7, melittin, polymyxinB, を投与すると、電位の振幅はアデノシンを加える前の大きさに減少した。さらに高濃度のアデノシンによって抑制後興奮が認められている時に、H-7を投与すると電位は可逆的にアデノシンを加える直前の大きさに戻り、H-7を除去すると電位は抑制後興奮が認められた振幅にまで増大した。

考 察

1 ; 高濃度のアデノシンによる抑制後興奮と低濃度のアデノシンの興奮作用は、アデノシン除去後もそれらの興奮作用が非可逆的に残る臨界時間が同じ30分であり、その興奮作用がいずれもPKCの抑制物質であるH-7, melittin, polymyxinB によって可逆的に拮抗されたので、この2つの興奮作用は同一の機構によると考えられる。

2 ; GABAや pentobarbital は神経伝達に対して強い抑制作用を示すが、抑制後興奮はおこさない。GABAあるいは pentobarbital と低濃度のアデノシンを同時に適用すると、高濃度のアデノシンにみられた抑制後興奮と類似した現象が認められた。従って、低濃度アデノシンの興奮機構は神経伝達を遮断した状態でも進行しており、抑制物質を除去すると隠されていた興奮作用が出現すると考えられる。

3 ; 高濃度アデノシンの存在下では、神経伝達は抑制されて観察できないが、この間にも抑制後興奮の機構は進行しており、高濃度のアデノシンを除去することによって、隠されていた興奮作用が発現すると考えられる。即ち高濃度のアデノシンの投与中には、抑制作用と興奮作用の両方が働くが、抑制作用の方が強力であるために興奮作用が隠蔽されて観察できず、アデノシンを除去することによって、抑制がとれ、その間に進行していた興奮作用すなわちPIEが惹起されたものと考えられる。

結 語

高濃度のアデノシンに認められる抑制後興奮は、低濃度のアデノシンの興奮作用と同じであると考えられた。両者の興奮発現機構にはPKCが関与している。

以上、本研究は従来知られていなかった海馬におけるアデノシンの興奮機構について研究したものであり、中枢神経系に豊富に存在するアデニンヌクレオチドの生理学的役割について重要な知見を見出したもので、価値ある集積であると認めた。よって本研究者は、博士(医学)の学位を得る資格があると認めた。