



# Propentofylline enhances the formation of long-term potentiation in guinea pig hippocampal slices

山田, 裕弘

---

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

1995-02-28

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲1346

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1001346>

※ 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）	山田裕弘 <sup>やまだ ゆきひろ</sup> （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933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7年2月28日
学位論文題目	Propentofylline enhances the formation of long-term potentiation in guinea pig hippocampal slices (プロペントフィリンは、海馬切片の長期増強の形成を促進する)
審査委員	主査 教授 岡田安弘 教授 中村 肇 教授 西塚泰美

## 論文内容の要旨

### はじめに

キサンチン誘導体のひとつであるプロペントフィリン (propentofylline) は、海馬における神経伝達に興奮性の作用を持ち、その興奮作用はタンパクキナーゼC (PKC) を含んだ代謝過程を介してなされる事を我々は報告してきた。このプロペントフィリンによる興奮作用は極めて緩徐な時間経過で発現し、記憶形成の基礎過程としてのシナプス可塑性とみなされている海馬の長期増強 (LTP) の発現の時間経過と類似している。我々は本研究において、この二つの現象の発現の時間経過が類似している事、そしていずれの場合もその発現にPKCが関与している事などの類似性に注目し、プロペントフィリンがLTP形成を促進させるかどうか、またこの系のLTP誘発に重要であるNMDA受容体がプロペントフィリンの作用に関与するかどうかを検討した。

### 方法

体重250~300gのモルモットを使用した。脳を摘出後、直ちに海馬をとり出し、300~400  $\mu$ mの厚さの海馬切片を作成した。各切片は95%O<sub>2</sub>-5%CO<sub>2</sub>で飽和させた標準灌流液（グルコース：10 NaCl：125 KCl：5 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>：1.24 MgSO<sub>4</sub>：1.3 CaCl<sub>2</sub>：2 NaHCO<sub>3</sub>：26mM）で20分間インクベートした。海馬切片を電位測定用チャンバーに移して、標準液（温度：36℃）を灌流（流速：5 ml/min）した。海馬切片において双極電極を用いてCA2野のSchaffer側枝を電気刺激（0.2Hz）し、ガラス電極によりCA1野におけるシナプス後電位（集合電位：population spikes：PS）をオシロスコープにて記録した。刺激の強度はいずれも最大刺激で得られる電位の最大振幅の半分になる強さに定めた。プロペントフィリンは最終濃度1 nM~1 mMの各濃度になるように灌流液を加えた。LTPの誘発には100Hz 1秒間のテタヌス刺激を与えた。

### 結果

切片からPSを記録しながら灌流液中に1 nM~1 mMの濃度プロペントフィリンを投与した。30

nM～1 mMのプロペントフィリンの投与により、P Sの振幅は薬剤投与後5～10分で徐々に増大し、投与後20分でもとのP S振幅の120～150%のプラトーに達した。プロペントフィリン10nM以下の濃度ではP S振幅に変化はみられなかった。プロペントフィリンがL T Pの形成を促進するかどうかを調べるために、プロペントフィリンがP Sに直接影響を与えない10nMの濃度を灌流液に加え、次の実験を行った。対照群としてプロペントフィリンを与えずにテタヌス刺激を加えると、刺激後20分でP S振幅はもとの振幅の $127.9 \pm 7.7\%$ （平均±標準誤差）に増大し、60分で $140.1 \pm 7.7\%$ に達し、L T Pが形成された。次に実験群として、10nMのプロペントフィリンの前投与後にテタヌス刺激を加えると、刺激後20分でP S振幅はもとの $160.3 \pm 3.8\%$ 、60分で $173.3 \pm 4.3\%$ に増大し、より顕著なL T Pが観察された。またこの系のL T P発現にはNMDA受容体が関与している事が必要であるとされているが、本実験においてNMDA受容体拮抗剤であるD-APV（ $50 \mu\text{M}$ ）がプロペントフィリンのP S増強作用とL T P形成に対してどのように作用するか調べた。D-APVはL T P形成を阻害したが、プロペントフィリンのP S増強作用には影響を与えなかった。このことよりプロペントフィリンのP S増強作用にはNMDA受容体は関与していない事が明らかになった。

### 考 察

プロペントフィリンは海馬神経伝達に達して興奮性作用を持つが、本研究においてその興奮作用はL T Pの形成を促進することが示された。プロペントフィリンの興奮作用の機序に関してはプロペントフィリンによって細胞外に蓄積されるアデノシンの作用を介してなされる可能性があり、この可能性について検討を加えた。海馬神経伝達作用に対し、アデノシンは低濃度（10nM～1  $\mu\text{M}$ ）では興奮性作用、高濃度（1  $\mu\text{M}$ ～1 mM）では抑制作用という2相性の作用を持つことが報告されている。もしプロペントフィリンがアデノシンを介して神経伝達に作用を示すとすればプロペントフィリンもP Sに対して2相性の反応を示すべきであるが本実験では興奮作用しか観察されず、神経伝達が抑制される低濃度（1  $\mu\text{M}$ ）のアデノシンを投与した後、さらに1  $\mu\text{M}$ のプロペントフィリンを加えた場合にも興奮作用しか観察されなかった。また50  $\mu\text{M}$ のアデノシンを投与してP S振幅がもとの約半分に抑制された場合、テタヌス刺激によるL T P形成は惹起されないが、プロペントフィリン1  $\mu\text{M}$ を投与するとP Sは増強されL T P様現象が起こった。これらの結果はプロペントフィリンの有する神経伝達興奮作用は細胞外でのアデノシンの蓄積によるものでない事が明らかになった。

プロペントフィリンのP S興奮作用は、テタヌス刺激によるL T P形成と類似した時間経過を示し、また両者ともPKC阻害剤で抑制されることからいずれの場合にもその興奮性の維持機構においてPKC系に収斂しているものと考えられる。

in vivoラットを用いた水槽迷路学習実験でプロペントフィリンの投与によって学習能を上昇されたという報告があるが、本研究が示したようにプロペントフィリンが記憶形成の基礎過程としてのL T P形成を促進させることにおいて学習能力が増大されると考えられる。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

キサンチン誘導体の一つであるプロペントフィリン（propentofylline）は、海馬における神経伝達に興奮性の作用を持ち、その興奮作用は蛋白キナーゼC（PKC）を含んだ代謝過程を介してなされること既に本研究者は報告してきた。このプロペントフィリンによる興奮作用は極めて緩徐な時間経過で発現し、記憶形成の基礎過程としてのシナプス可塑性とみなされている海馬の長期増強（L

TP)の発現の時間経過と類似している。本研究においては、この二つの現象の発現の時間経過が類似していること、そしていずれの場合もその発現にPKCが関与していることなどの類似性に注目し、プロペントフィリンがLTP形成を促進させるかどうか、またこの系のLTP誘発に重要であるNMDA受容体がプロペントフィリンの作用に関与するかどうかを検討した。

実験系としてはモルモット脳の海馬切片を作製し、海馬CA<sub>1</sub>野のSchaffer側枝の電気刺激(0.2 Hz, 刺激巾0.1 msec)でCA<sub>1</sub>野の錐体細胞層に誘発されるシナプス後電位(集合電位, population spike, PS)をオシロスコープで記録し、シナプス伝達の指標とした。

テタヌス刺激(100 Hz, 1秒)をSchaffer側枝に与えるとPSの振幅は徐々に増大し、刺激後20分でもとの128%に、60分で140%に増大した。プロペントフィリンは、灌流液の濃度0.1  $\mu$ M ~ 1 mMで興奮作用を有するが、それ自身では興奮作用を示さない10 nM濃度のプロペントフィリンを前処置した後、テタヌス刺激を加えるとPS振幅は急速に増大し、刺激後20分でもとの160%、60分で173%にも増大し、顕著なLTPが観察された。

LTPの発現誘発は、グルタミン酸受容体のサブタイプ一つであるNMDA受容体の活性化が必要とされているが、NMDA受容体拮抗薬であるD-APV (50  $\mu$ M)を作用させると、テタヌス刺激のみによるLTP形成は抑制されたが、プロペントフィリンによる増強作用は抑制されなかった。このことよりプロペントフィリンのPS増強作用にはNMDA受容体は関与していないことが明らかとなった。

プロペントフィリンのPS興奮作用は、テタヌス刺激によるLTP形成と類似した時間経過を示し、また両者ともPKC阻害剤で抑制されることから、プロペントフィリンはNMDA受容体の活性化を必要としないが、興奮性の維持に関してLTPと同様にPKC系に収斂していると考えられた。

LPTは記憶形成の基礎過程としてのシナプスの可塑性の一つと考えられるが、プロペントフィリンがLTP形成を促進させるという事実は、今後記憶障害の改善という臨床的応用に重要な意義をもつものと考えられる。本研究は、プロペントフィリンのシナプス伝達作用とLTP形成促進作用を明らかにしたものであるが、従来はほとんど行われなかった記憶形成の促進機序に対するプロペントフィリンの効果の基礎過程を明らかにするための重要な知見として価値ある集積であると認める。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る。