



Excitatory effects of adenosine are not mediated by inhibition of GABAergic system in slices of superior colliculus and hippocampus from guinea pig

小林, 恵三

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

1999-03-31

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲1983

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1001983>

※ 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）	こ ばやし けい ぞう 小 林 恵 三	（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1227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11年3月31日	
学位論文題目	Excitatory effects of adenosine are not mediated by inhibition of GABAergic system in slices of superior colliculus and hippocampus from guinea pig （モルモット海馬、上丘切片におけるアデノシンの興奮性効果は GABA 作動性系を介さないで惹起される）	
審査委員	主査 教授 岡 田 安 弘 教授 水 野 耕 作 教授 龍 野 嘉 紹	

論文内容の要旨

[緒言]

アデノシンは中枢神経系において抑制性の神経伝達修飾物質として作用することが、知られている。しかし最近我々はアデノシンが、海馬、上丘の神経伝達に対して興奮作用を持つことを見いだした。すなわち海馬切片でアデノシンが10nM から1 μ M の低濃度では興奮作用を持ち、10 μ M 以上の高濃度では顕著な抑制作用を示す二相性の効果を持つことを明らかにし、一方上丘では10nM から1 mM の範囲で常に興奮性の作用を持ち、抑制作用を示さないことを発見した。海馬では GABA 作動性の介在性抑制ニューロンが存在することが知られており、さらに上丘、特に浅灰白質層（SGL）は高濃度 GABA を含有し、SGL の60%のニューロンは、GABA 作動性介在ニューロンであることが知られている。このことはアデノシンが GABA 作動性の抑制機能を脱抑制して興奮作用を表している可能性を示唆する。このような事実より SGL や海馬における興奮作用が GABA 作動性の系を介するのかどうかを調べることは非常に重要なことである。本研究においては海馬、上丘でみられるアデノシンの興奮性作用が GABA 作動系の脱抑制によるかどうかを明らかにした。

[方法]

モルモット（200～300g）から海馬と上丘を摘出した。海馬は300～400 μ m、上丘は400～500 μ m の切片を作成した。各切片は95% O₂、5 %CO₂で飽和したグルコース10mM を含むリンゲル液で20分間前インキュベーションをした。海馬切片においては、貫通線維を電気刺激し、歯状回顆粒細胞層から場のシナプス後電位（PS）を記録した。上丘切片では、視神経層を電気刺激し、SGL にて PS を記録した。

[結果]

（1）海馬と上丘切片の PS に対するアデノシンの興奮効果

上丘切片にアデノシン（10 μ M～1 mM）、海馬切片にアデノシン（10 μ M～0.1 μ M）作用させると興奮作用が惹起されるが、本実験においての GABA 拮抗薬や蛋白キナーゼ C 阻害剤を用いた系では便宜上、上丘切片には100 μ M のアデノシン、海馬では0.1 μ M のアデノシンを作用させた。この濃度では常に PS の振巾に対し最大の反応が得られた。

(2) 海馬, 上丘切片の神経伝達に対するピクロトキシンの効果

両切片の環流液に GABA_A レセプターの拮抗薬であるピクロトキシン (100 μ M) を作用させると海馬の PS 振巾はもとの155%, 上丘の PS は120%に増大した。アデノシンとピクロトキシンの興奮作用の相違を検討するために, 海馬切片, 上丘切片をそれぞれ0.1 μ M, 100 μ M のアデノシン前処置して PS を増大させた後に, さらに100 μ M のピクロトキシンを作用させると PS はさらに増大した。また同様にピクロトキシンの前処理した切片にさらにアデノシンを作用させた場合にも両切片とも PS はさらに増大した。この事実より興奮作用についてアデノシンの作用部位とピクロトキシンの作用部位が異なることが示唆された。

(3) アデノシン, ピクロトキシンの興奮作用に対する蛋白キナーゼ阻害薬の抑制作用

海馬においてアデノシンの興奮性効果は H-7, HA1004などの蛋白キナーゼ阻害剤によって発現が抑制されること知られている。今回 H-7, および蛋白キナーゼ C に特異的に作用する GF109203X を用いてアデノシンおよびピクロトキシンの興奮性効果に対する作用を検討した。上丘切片において GF109203X (10 μ M) で前処置しアデノシン (100 μ M) を加えてもアデノシンの興奮効果は現れなかった。またアデノシン前処置することによって増大した PS は GF109203X 投与によってもとの振巾にまで減小した。一方ピクロトキシンの興奮性効果は GF109203X によって影響を受けなかった。また, GF109203X の代わりに H-7 を投与したときにも同様の結果が得られた。これらの結果はアデノシンの興奮性効果の維持には蛋白キナーゼ系が関与すること, ピクロトキシンの興奮作用には蛋白キナーゼ系が関与していないことが明らかになった。これらの諸結果からアデノシンによる興奮作用は, GABA 作動性ニューロンの脱抑制によって惹起されるものでなくアデノシンの直接作用であることが結論できた。

[考察]

本研究からアデノシンによる興奮性作用は, 一般に知られているアデノシンの抑制効果が GABA 作動性ニューロンに及ぶことによって起こる脱抑制を介して惹起されるのではなく, アデノシン自身が神経伝達に対し直接的に興奮性効果をもつことが明らかになった。このことは我々が以前に行ったアデノシンによって切片の興奮性伝達物質であるグルタミン酸の放出が増大し, さらにこの増大が H-7 や HA1007で抑制されるという結果とよく一致している。

アデノシンの神経伝達に対する興奮性効果の時間経過がシナプス前線維を連続刺激することによって起こされる長期増強 (LTP) のそれと類似していることは注目に値する。また興味あることは LTP の維持機構において蛋白キナーゼ系が関与していることが明らかにされており, 本研究での GF109203X のアデノシンによる興奮作用の抑制からみて, アデノシンによる興奮作用と LTP による増強作用の維持機構が同様のメッセンジャー系に収斂している可能性を強く示唆している。

論文審査の結果の要旨

アデノシンは, 中枢神経系において抑制性の神経伝達修飾物質として作用することが知られている。しかし最近我々はアデノシンが海馬, 上丘の神経伝達に対して興奮作用を持つことを見いだした。海馬, 上丘では GABA 作動性の介在性抑制ニューロンが存在することが知られており, このことはアデノシンが GABA 作動性の抑制機能を脱抑制して, 興奮作用を表している可能性を示唆する。このような事実より, 上丘や海馬における興奮作用が GABA 作動性の系を介するのかどうかを調べることは非常に重要なことである。本研究においては海馬, 上丘でみられるアデノシンの興奮性作用が,

GABA 作動系の脱抑制によるかどうかを明らかにした。

研究としては、モルモット (200~300g) 脳を用い、海馬と上丘を摘出した。海馬は300~400 μ m, 上丘は400~500 μ m の切片を作成した。各切片は95%O₂, 5%CO₂で飽和したグルコース10mM を含むリンゲル液で20分間前インクベートをした。海馬切片においては、貫通線維を電気刺激し、歯状回顆粒細胞層から場のシナプス後電位 (PS) を記録した。上丘切片では、視神経層を電気刺激し、浅灰白質層にて PS を記録した。

上丘切片にアデノシン (10 μ M~1 mM), 海馬切片にアデノシン (10nM~0.1 μ M) を作用させると興奮作用が惹起されるが、本実験においての GABA 拮抗薬や蛋白キナーゼ C 阻害剤を用いた系では、便宜上上丘切片には100 μ M のアデノシン、海馬では0.1 μ M のアデノシンを作用させた。これらのアデノシン濃度では、常に PS の振巾に対し最大の反応が得られた。

両切片の灌流液に、GABA_A レセプターの拮抗薬であるピクロトキシン (100 μ M) を作用させると、海馬の PS 振巾はもとの155%, 上丘の PS は120%に増大した。アデノシンとピクロトキシンの興奮作用の相違を検討するために、海馬切片、上丘切片をそれぞれ0.1 μ M, 100 μ M のアデノシンで前処理して PS を増大させた後に、さらに100 μ M のピクロトキシンを作用させると PS はさらに増大した。また同様にピクロトキシンで前処理した切片にさらにアデノシンを作用させた場合にも両切片とも PS はさらに増大した。この事実より、興奮作用についてアデノシンの作用部位とピクロトキシンの作用部位が異なることが示唆された。

海馬においてアデノシンの興奮性効果は、H-7, HA1004などの蛋白キナーゼ阻害剤によって発現が抑制されることが知られている。今回 H-7, および蛋白キナーゼ C に特異的に作用する GF109203X を用いて、アデノシンおよびピクロトキシンの興奮性効果に対する作用を検討した。上丘切片において GF109203X (10 μ M) で前処置した後に、アデノシン (100 μ M) を加えてもアデノシンの興奮性効果は現れなかった。またアデノシン前処理することによって増大した PS は GF109203X 投与によってもとの振巾にまで減小した。一方ピクロトキシンの興奮性効果は、GF109203X によって影響を受けなかった。また、GF109203X の代わりに H-7 を投与した時にも同様の結果が得られた。

本研究からアデノシンによる興奮性作用は、一般に知られているアデノシン抑制効果が GABA 作動性ニューロンに及ぶことによって起こる脱抑制を介して惹起されるのではなく、アデノシン自身が神経伝達に対し直接的に興奮性効果をもつことが明らかになった。

本研究は、中枢神経系の神経伝達におけるアデノシンの興奮作用について、その効果が GABA 作動性の介在ニューロンの脱抑制によって惹起されるものでなく、アデノシンの直接作用であることを明らかにしたものであるが、従来ほとんど行われなかったアデノシンの興奮作用と GABA の抑制作用との相関について重要な知見を得たもの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。