

海馬培養神経細胞オートプスにおける伝達物質放出の分子機構の解明  
～バクロフェンのシナプス前抑制の作用機構の検討～

獨協医科大学 生理学(生体情報) 福島央之 堀雄一

バクロフェンのシナプス前作用の分子機構を理解するために、培養した海馬神経細胞の自己回帰性シナプス(オートプス)を用い、電流記録をおこなった。オートプスは、一個の神経細胞のみ成育した場合、軸索は自分自身の細胞体、樹状突起の上に自己回帰性のシナプスをつくる。利点として、細胞体に抗体、ペプチド等を灌流し、軸索突起末端まで拡散させることでシナプス前末端の分子の機能を調べられること、また、自発放出による微小ポストシナプス電流(mPSC)も刺激誘発性ポストシナプス電流(ePSC)も軸索を共有しているので、両者を関係付けられることが挙げられる。

GABA<sub>B</sub>受容体の活性化はG蛋白を介して、Ca<sup>2+</sup>チャネルの抑制あるいはK<sup>+</sup>チャネルの活性化により、シナプス前末端へのCa<sup>2+</sup>の流入量を減らして、伝達物質の放出を減少させると報告されている。GABA<sub>B</sub>受容体の作用薬であるバクロフェン(100 μM)を海馬培養神経細胞オートプスに投与したところ、eEPSCの振幅が可逆的に減少し、mEPSCの発生頻度が有意に減少した。しかし、mEPSCの振幅の分布ヒストグラムにおける平均振幅は、バクロフェンによって有意の変化を示さなかった。このことから、バクロフェンはシナプス前終末端に作用して、興奮性伝達物質の放出を抑制すると結論された。次に、バクロフェンのシナプス前抑制作用の細胞内機構を解明することを目的とし、Ca<sup>2+</sup>を除去した細胞外液においてバクロフェンの作用を検討した。細胞外液のCa<sup>2+</sup>の除去によって、eEPSCの発生はブロックされた。mEPSCの発生頻度は減少したが、振幅は変化を示さなかった。0 mM Ca<sup>2+</sup>細胞外液中で、バクロフェンは、mEPSCの発生頻度を減少させたが、その振幅は変化しなかった。この結果はバクロフェンによるGABA<sub>B</sub>受容体の活性は、シナプス前終末端へのCa<sup>2+</sup>の流入抑制以降の開口放出の機構に作用することによって、伝達物質の放出を減少することが示唆される。

より詳細な細胞内機構を明らかにするために、伝達物質放出に関与している蛋白のインヒビタ一の細胞外投与、および、抗体、ペプチド等の細胞内投与を用いた実験を計画している。