

氏名 (本籍)	張 唯 (中国)
学位の種類	博士 (医学)
学位授与番号	甲第 314 号
学位授与日付	平成 8 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	Pharmacological characteristics of receptors for L-glutamic acid and its derivatives on the giant neurones of <i>Achatina fulica</i> Férussac. (1) Effects of L-glutamic acid and its agonists on snail neurones. (2) Pharmacological characteristics of an outward current produced by $\beta$ -hydroxy-L-glutamic acid on a snail neurone.
審査委員	(主査) 教授 竹内 宏 (副査) 教授 植松 俊彦 教授 松波 謙一

### 論文内容の要旨

哺乳動物神経系では, L-glutamic acid (L-Glu) は興奮性神経伝達物質であり, そのreceptorは基本的に, 3種のionotropic receptor type (NMDA (N-methyl-D-aspartic acid) type, AMPA ( $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionic acid) type, kainic acid (KA, 2-carboxy-4-(1-methylethyl)-3-pyrrolidineacetic acid) type) およびmetabotropic receptorに分類されている。本研究では, アフリカマイマイ (*Achatina fulica* Férussac) 巨大神経細胞に対するL-Gluおよびそのアゴニストの作用を, 上記の哺乳動物神経系の場合と比較しながら検討した。L-Gluのアゴニストとして, D-Glu,  $\beta$ -hydroxyglutamic acid (BHGA) の4種 (threo-L-, erythro-L-, threo-D-, threo-D-) の立体異性体, NMDA (NMDA type L-Glu receptor agonist), AMPA (AMPA type L-Glu receptor agonist), KA (AMPA type and KA type L-Glu receptor agonist), quisqualic acid (QA) (AMPA type and KA type and metabotropic L-Glu receptor agonist), ibotenic acid (IA) (NMDA type and metabotropic L-Glu receptor agonist) ならびにdomoic acid (DOA) (AMPA type and KA type L-Glu receptor agonist) の作用を検討した。さらに巨大神経細胞v-LCDN (ventral-left cerebral distinct neurone) については, threo-L-BHGAにより引き起こされる外向き電流 ( $I_{out}$ ) に対する, L-Gluの抑制物質であるD(-)-AP-5, ( $\pm$ )-CPP (NMDA type L-Glu receptor antagonist), CNQX (AMPA type and KA type L-Glu receptor antagonist), L(+)-AP-3 (metabotropic L-Glu receptor antagonist) の作用, ならびに細胞内シグナル変換系の抑制物質である H-7 (PKA, PKG and PKC inhibitor), H-8 (PKA and PKG inhibitor), H-9 (PKA inhibitor), staurosporine (PKA and PKC inhibitor), KT5823 (PKG inhibitor), calphostin C (PKC inhibitor), W-7 (calmodulin inhibitor) の作用を検討した。またv-LCDNでは, L-Glu, L-BHGAと比較しながら, GABA, glycine (Gly), L-homocysteic acid (L-HCA),  $\beta$ -alanine ( $\beta$ -Ala), taurine (Tau) の作用を検討した。

#### 材料と方法

フィリピンより輸入されたアフリカマイマイ神経節の中に, 5種の神経細胞, PON (periodically oscillating neurone), RAPN (right anterior pallial nerve neurone), d-RPLN (dorsal-right parietal large neurone), RPeNLN (right pedál nerve large neurone), v-LCDNを同定し, 実験に使用した。神経細胞の細胞体に微小電極2本を刺入し, 膜電位固定を行った。L-Gluとそのアゴニストをマイクロピペットに充填し, 圧により ( $2 \text{ kg/cm}^2$ , 400msec,  $10^{-3} \text{ M}$ ) 神経細胞に局所的に投与した。L-Gluの拮抗物質ならびに細胞内シグナル変換系の抑制物質は, 灌流により与えられた。

#### 結果と考察

4種の神経細胞, PON, RAPN, d-RPLN, RPeNLNは, L-Gluにより内向き電流 ( $I_{in}$ ) を発生した。*Threo-L-BHGA*により同様に $I_{in}$ を発生したが, それはL-Gluの場合よりも弱かった。これに反してv-LCDNはL-Gluにほとんど感受性を示さなかったが, threo-L-, erythro-L-BHGAにより, 強い $I_{out}$ を発生した。すなわち先の4種の神

経細胞は、L-Glu receptorを持つと考えられたが、v-LCDNにおけるL-BHGAに感受性を持つreceptorは、明らかにL-Glu receptorではなかった。

L-Gluにより $I_m$ を発生する4種の神経細胞のうち、d-RPLNはL-Gluの他にKAとAMPAに感受性を持ち、このL-Glu receptorの性質は、哺乳動物のionotropic AMPA type L-Glu receptorに似ていた。RAPNはQAとIAに感受性を持ち、このL-Glu receptorの性質は、metabotropic L-Glu receptorに似ていた。PONとRPeNLNはQA、AMPA、IAに感受性を持ち、これらのL-Glu receptorの薬理学的特性は、ionotropic AMPA type L-Glu receptorとmetabotropic L-Glu receptorの間であった。しかしながら、これら*Achatina*神経細胞におけるL-Glu receptorの薬理学的分類を確実にするには、さらにこれら神経細胞で、L-Gluにより発生した $I_m$ に対するL-Glu拮抗物質の作用を検定せねばならない。

v-LCDNはQAにより $I_{out}$ を発生したが、NMDA、KA、AMPA、IA、DOAにより弱い $I_m$ を発生したに過ぎなかった。この神経細胞でthreo-L-BHGAにより生じた $I_{out}$ に対して、L-Glu拮抗物質であるD(-)-AP-5、(±)-CPP、CNQX、L(+)-AP-3は、いずれも作用を示さなかった。従ってこの神経細胞のL-BHGA receptorの性質は、哺乳動物L-Glu receptorからかなり隔たっていると考えられた。またこの $I_{out}$ に対して、シグナル変換系の抑制物質であるH-7、H-8、H-9、staurosporine、KT5823、calphostin C、W-7は、まったく作用を示さなかった。このことよりv-LCDNのL-BHGA receptorは、ionotropic receptorであろうと推測された。さらにこの神経細胞に対して、 $\beta$ -Ala、Tauは作用がなく、GABA、Gly、L-HCAは、逆に $I_m$ を発生させた。これらの実験結果より、先に記したようにL-BHGAにより $I_{out}$ を発生させるreceptorは決してL-Glu receptorではなく、しかもL-BHGA以外には顕著な $I_{out}$ を発生させるアミノ酸の神経伝達物質候補が見付からないので、L-BHGA (threo-L-あるいはerythro-L-) が、この神経細胞の抑制性神経伝達物質であろうと推測された。

#### 論文審査の結果の要旨

申請者張 唯は本研究において、*Achatina fulica*巨大神経細胞5種を用いて、L-GluおよびL-BHGA receptorの薬理学的性質を、膜電位固定法を用いて研究し、その結果を哺乳動物神経細胞の場合と詳細に比較検討した。とくにその実験結果より、神経細胞v-LCDNにおいてはL-BHGAが抑制性神経伝達物質であることを提唱した。本研究の成果は、神経細胞の生理・薬理学的研究に、多大の進歩をもたらすものと考えられる。

---

##### [主論文公表誌]

- (1) Effects of L-glutamic acid and its agonists on snail neurones.  
General Pharmacology, in press.
- (2) Pharmacological characteristics of an outward current produced by  $\beta$ -hydroxy-L-glutamic acid on a snail neurone.  
General Pharmacology, in press.