

グルタミン酸のリアルタイム計測による新規な脳活動解析法

哺乳類の脳内に存在する興奮性神経伝達物質であるL-グルタミン酸 (L-Glu) は学習や記憶、脳の発達などの高次機能に重要な役割を果たしている。この役割を明らかにするには、脳活動と細胞外におけるL-Gluの濃度変化との関連性を、生きた状態でリアルタイム測定する必要がある。そこで神経細胞の電気活動 (EPSP) とL-Glu濃度を同時に計測する手法を開発した。急性海馬スライスに電気信号を与えると細胞外L-Glu応答が得られ、EPSPとの間に良い相関が認められた。本技術により、記憶の素過程と考えられる神経伝達効率とL-Gluの動態との関連性が解析できることが期待される。

【F2012】

急性海馬スライスを電気刺激した際に放出されるグルタミン酸のリアルタイム計測

(日本文理¹・東北大院医工²・イギリス国立医学研³) ○穂積志津子¹・池澤香奈¹、堀江未恵子¹、東海林敦¹・平野愛弓²・T. Bliss³・菅原正雄¹ [連絡者：菅原正雄，電話：03-5317-9398，E-mail：sugawara@chs.nihon-u.ac.jp]

哺乳類脳内に存在する主要な興奮性神経伝達物質である L-グルタミン酸 (L-Glu) は、学習や記憶、脳の発達などの高次機能に重要な役割を果たしているため、脳活動と細胞外における動的なグルタミン酸の濃度変化との関連性を調べるのが重要である。分析手法としては、脳組織をすりつぶした後に L-Glu を測定する破壊分析法ではなく“生きた”脳組織を対象にして刻々と変化する L-Glu 濃度変化を実時間でその場で計測する手法が要求される。特に、神経細胞の電気活動 (興奮性シナプス後電位: EPSP) とそれに応じて生ずる動的な L-Glu 濃度変化の同時計測は神経活動を理解するために重要である。

本研究では、急性海馬スライスの神経活動の指標である EPSP と L-Glu 濃度を同時に計測する手法の開発を行った。急性海馬スライスにおける CA1 領野の EPSP 波形の勾配をモニタリングするために与えた 0.052 Hz の基本刺激では、グルタミン酸センサーの応答は確認できなかった。検出限界を考慮すると生理条件下における細胞外 L-Glu 濃度は sub- μM またはそれ以下であると示唆された。一方 2 Hz の電気刺激を与えると、細胞外液へ放出されたグルタミン酸による応答が観測され、神経活動を表す EPSP の勾配とグルタミン酸センサーの応答との間にはよい相関が認められた。テタヌス刺激 (100 Hz, 16 秒) を与えることで EPSP 勾配の増大が長時間持続する長期増強現象 (LTP) を誘起した場合、LTP 誘起前後における 2 Hz 刺激時のグルタミン酸センサーの応答には差異が見られ、LTP 誘起後に応答が増大した。これらの結果から、神経伝達効率の上昇 (LTP) の後に L-Glu 濃度は増大することがわかった。本研究により、電気生理学的研究で必須である EPSP の計測と神経活動に応じた細胞外 L-Glu の動的な濃度変化を同時に計測する技術を開発することができた。この計測技術は、記憶の素過程であると考えられている LTP と L-Glu の動態との関連性を詳細に解析できるものと期待できる。

