

摘要

GABA_A レセプターチャネル複合体に作用する、数種化合物のイオン電流抑制機構を解明するため、ラットの末梢系神経細胞である DRG ニューロンを用いて研究を行い、以下の事項が明らかとなった。

1. フィプロニルは GABA 誘導性イオン電流を可逆的に抑制し、静止状態のチャネルにおいてもイオン電流を抑制した。
2. フィプロニルによる電流抑制はフィプロニル濃度依存性を示し、静止状態のチャネルにおける IC₅₀ 値は、 $1.66 \pm 0.18 \mu\text{M}$ 、活性化チャネルにおける IC₅₀ 値は $1.61 \pm 0.14 \mu\text{M}$ であった。静止状態および活性化状態のチャネルにおける IC₅₀ 値は互いに類似した値であったことから、チャネルの活性化はフィプロニルの結合部位に対する親和性に影響しないことが判明した。
3. フィプロニルの結合部位に対する結合と解離は、チャネルの活性化により促進され、これらの作用はピクロトキシニンの深部結合部位における作用と類似していた。
4. シングルチャネルイオン電流に対するフィプロニルの作用を検討した結果、開時間およびバースト持続時間には影響を与えなかったが、閉時間を延長したことから、フィプロニルはチャネルの開頻度を低下させることが判明した。
5. 静止状態のチャネルにおけるフィプロニルとピクロトキシニンの相互作用を検討した結果、両化合物は異なる部位に結合することが示唆された。
6. 静止状態のチャネルにおいて、フィプロニルとピクロトキシニンが異なる

部位に結合する可能性が示された原因として、ピクロトキシニンは GABA_A レセプター上に 2 カ所の結合部位を持ち、本条件下ではフィプロニルとピクロトキシニンは別の結合部位に作用したためであると考察した。

7. シングルチャネルイオン電流に対するディルドリンおよびピクロトキシニンの作用を検討した結果、両化合物はバースト持続時間には影響を与えなかったが、開時間を減少させ、さらに閉時間を延長したことから、開いているチャネルを閉じさせるように作用し、さらにチャネルの開頻度を低下させることが判明した。
8. シキミに含有している有毒成分のアニサチンは、GABA 誘導性イオン電流を濃度依存的に抑制し、IC₅₀ 値は 1.10±1.4 μM であった。
9. アニサチンがイオン電流を抑制するためには、GABA 処理によるチャネルの活性化が必要であった。
10. アニサチンのシングルチャネルイオン電流に対する作用を検討した結果、バースト持続時間を減少させた。また、チャネルの閉時間を延長させたことから、アニサチンはチャネルの開頻度を減少させることが明らかとなった。
11. アニサチンとピクロトキシニンの間の相互作用を検討した結果、ピクロトキシニン濃度が高いとき、アニサチンによる電流抑制はほとんど認められなかった。このことから、アニサチンはピクロトキシニンと結合部位を共有している可能性が示された。
12. モデルを用いてアニサチンとピクロトキシニンの間の相互作用を検討した結果、ピクロトキシニンが低濃度のとき、アニサチンはピクロトキシニン

とは異なる部位に作用し、高濃度のときは同一部位に作用することが示唆された。

13. ピクロトキシニンが低濃度のときと高濃度のときで、両化合物の相互作用様式が異なった原因として、アニサチンはピクロトキシニン深部結合部位に作用するが、ピクロトキシニンは低濃度の時は浅部結合部位に作用し、濃度が高くなるに従って深部結合部位にも作用するため、深部結合部位でアニサチンとピクロトキシニンは互いに競合したためであると考察した。
14. シングルチャネルイオン電流を解析した結果、フィプロニル、ディルドリン、ピクロトキシニン、およびアニサチンはチャネルの開頻度を低下させることによりイオン電流を抑制することが判明し、チャネルを閉じた状態で安定化させるという共通した作用機構を持つことが明らかとなった。