

〔総説〕

アミノ酸と化学伝達物質

Amino Acids, as Chemical Transmitters

東京医科歯科大学医学部薬理学教室

大 塚 正 徳

MASANORI ŌTSUKA

(1) はじめに

近年の化学伝達学説の歴史を顧みるとその進歩は比較的緩慢である。1904年 Elliott¹⁵⁾によって化学伝達の仮説が呈出されてから17年を経て Loewi³⁴⁾の有名な灌流実験により始めてアセチルコリン (ACh) が化学伝達物質として確立した。その後再び約30年の経過で漸く von Euler (1946)⁵⁶⁾, Peart (1949)⁴⁸⁾の研究により交感神経系の伝達物質に関する混乱が解決した。

しかし化学伝達学説の窮極の目標の一つでもある高等動物中枢神経系における伝達物質の問題は今日なお依然として解決していない。現在伝達物質が確立している唯一のシナプスは脊髄の運動ニューロンと Renshaw 細胞との間のコリン作働性興奮性シナプスであって³²⁾, これまで集積された数多くの研究の結論は, 哺乳動物中枢のシナプスの大部分が ACh, ノルアドレナリン以外の物質によって仲介されていることを示している⁵¹⁾³³⁾³⁰⁾。

最近になって幾つかのアミノ酸が中枢の伝達物質として有望視されるようになった。この問題については Curtis および Watkins (1965)¹¹⁾の総説があるので本稿では主としてそれ以後の発展について概観し, 筆者の私見も述べてみようと思う。

(2) γ -アミノ酪酸

γ -アミノ酪酸 (GABA) は伝達物質として確立した唯一のアミノ酸である。GABA は1950年哺乳動物中枢神経系に特異的に存在することが知られ⁵⁰⁾, 神経系中にある抑制性物質として注目されるようになったが²⁾²²⁾²⁶⁾, この点は化学的に choline 誘導体の中から強力な作用物質として発見された ACh²⁴⁾とはその出発点が多少異なっている。GABA が伝達物質として完全な証拠が揃っているシナプスは甲殻類の神経筋接合部だけであるが, これについてはすでに別の場所で述べたので⁴⁴⁾ここでは繰り返さないことにする (竹内⁵²⁾参照)。

甲殻類においても哺乳動物中枢神経系においても

GABA が抑制性伝達物質である可能性はかなり以前から考えられ²⁾¹⁸⁾²²⁾, これを支持する実験事実も得られていたが, しかしごく最近まではかなり疑いを持たれ, あるいは否定的な見方がなされてきた⁴⁾⁶⁾¹¹⁾。そのおもな理由は ACh の場合の Loewi の実験に相当する, すなわち神経刺激による GABA 遊離の証明がなかなか成功しなかったからである。しかし遊離の証明が成功し⁴⁵⁾, 少なくとも甲殻類においては GABA が伝達物質として確立したのと前後して哺乳動物中枢でも GABA が伝達物質であることを強く示唆する実験結果が得られてきた。

すなわち小幡らは Deiters 細胞の抑制性シナプスにつき^{39)~43)}, Krnjević らは大脳皮質の抑制性シナプスにおいて³¹⁾, いずれもその伝達物質が GABA であることを主張している (小幡⁴⁰⁾参照)。以下証拠がより完全な Deiters 細胞について述べる。

小脳皮質の Purkinje ニューロンの神経線維は延髄の Deiters 細胞に至って抑制性シナプスを形成し, そこに過分極性のシナプス後電位 (IPSP) を発生する²⁵⁾。GABA を微小電極から Deiters 細胞に適用した場合にも同じく過分極を生ずるが, この過分極は上に述べた IPSP と次の点で共通している⁴¹⁾⁴³⁾。

(i) 膜コンダクタンスの上昇

(ii) 電流によって神経細胞の膜電位を変えた場合, 過分極が脱分極に転ずる電位, すなわち逆転電位がほぼ等しい。

(iii) とともにストリキニーネによって影響されない。

後に述べるグリシンも GABA に似た作用を示すがその作用は GABA よりも弱く, またグリシンの作用はストリキニーネによって消失する点 IPSP と異なっている (第1表)。

次にネコの小脳皮質の Purkinje 細胞を集めてその GABA 含有量を測定してみると他の部分よりも高濃度に GABA を含み, この結果も Purkinje ニューロンの伝達物質が GABA であるという仮説に一致している³³⁾³⁹⁾。

さらにこの仮説を強く支持する実験結果が最近小幡, 武田によって得られた⁴²⁾。Purkinje ニューロンによっ

第1表 Deiters ニューロンおよび脊髄運動ニューロンにおける中性アミノ酸の作用。小幡ら⁴¹⁾⁴³⁾, Curtis ら⁷⁾の実験結果に基づく。

	Deiters ニューロン	脊髄運動 ニューロン
抑制作用の強さ	GABA>グリシン	GABA<グリシン
ストリキニーネの作用		
IPSP	影響せず	抑制
GABA に対して	影響せず	影響せず
グリシン	抑制	抑制

て抑制性支配を受ける Deiters 核および小脳核は第4脳室をとり囲んで位置するので、第4脳室を灌流するならば伝達物質が脳室内に遊離してくることが期待される。実際、灌流液中の GABA 量を測定してみると、小脳皮質の刺激によってその量が約3倍に増加する。ただしこの場合刺激されているのは Purkinje 細胞だけではないので直ちに第4脳室に遊離してきた GABA が Purkinje ニューロンの軸索末端に由来すると結論することはできない。この点は甲殻類での GABA 遊離の証明が単一ニューロンについて行なわれたのと比較して⁴⁵⁾、哺乳類中枢の灌流実験は遙かに複雑である。

つぎにシナプス前抑制を例にとって伝達物質証明の方法論をもう少し考えてみよう。ピクロトキシンは甲殻類の抑制性シナプスにおいてシナプス伝達と GABA の作用をとともに抑えることが知られているので¹⁸⁾⁴⁹⁾、シナプス前抑制がピクロトキシンによって遮断されることは、このシナプスにおける伝達物質が GABA であることを考えさせる¹⁴⁾。しかし脊髄のシナプス前抑制においては求心性神経終末は脱分極しその結果興奮性は上昇するのに反して、神経終末に GABA を適用した場合にはその興奮性が低下したことから Curtis らはこのシナプスでの伝達物質は GABA ではなかろうと結論している¹⁰⁾。後に述べるように (229 頁)、シナプス後電位と GABA による電位変化との方向が違っていたとしても直ちに GABA が伝達物質であることを否定はできないが、一方ピクロトキシンと GABA との対応もどれほど厳格なものであるか、疑問である。甲殻類の伸展受容器ではピクロトキシンは GABA のほかに imidazoleacetic acid, β -guanidopropionic acid の抑制作用にも拮抗する³⁸⁾。他方、哺乳類脊髄では GABA の作用はピクロトキシンの影響を受けない¹¹⁾。さらに上に述べた GABA が伝達物質であると考えられている Deiters ニューロンおよび大脳皮質の抑制性シナプス伝達もピクロトキシンの影響を受けない³⁰⁾⁴¹⁾。

GABA が脳内に広く分布していることから考えて、

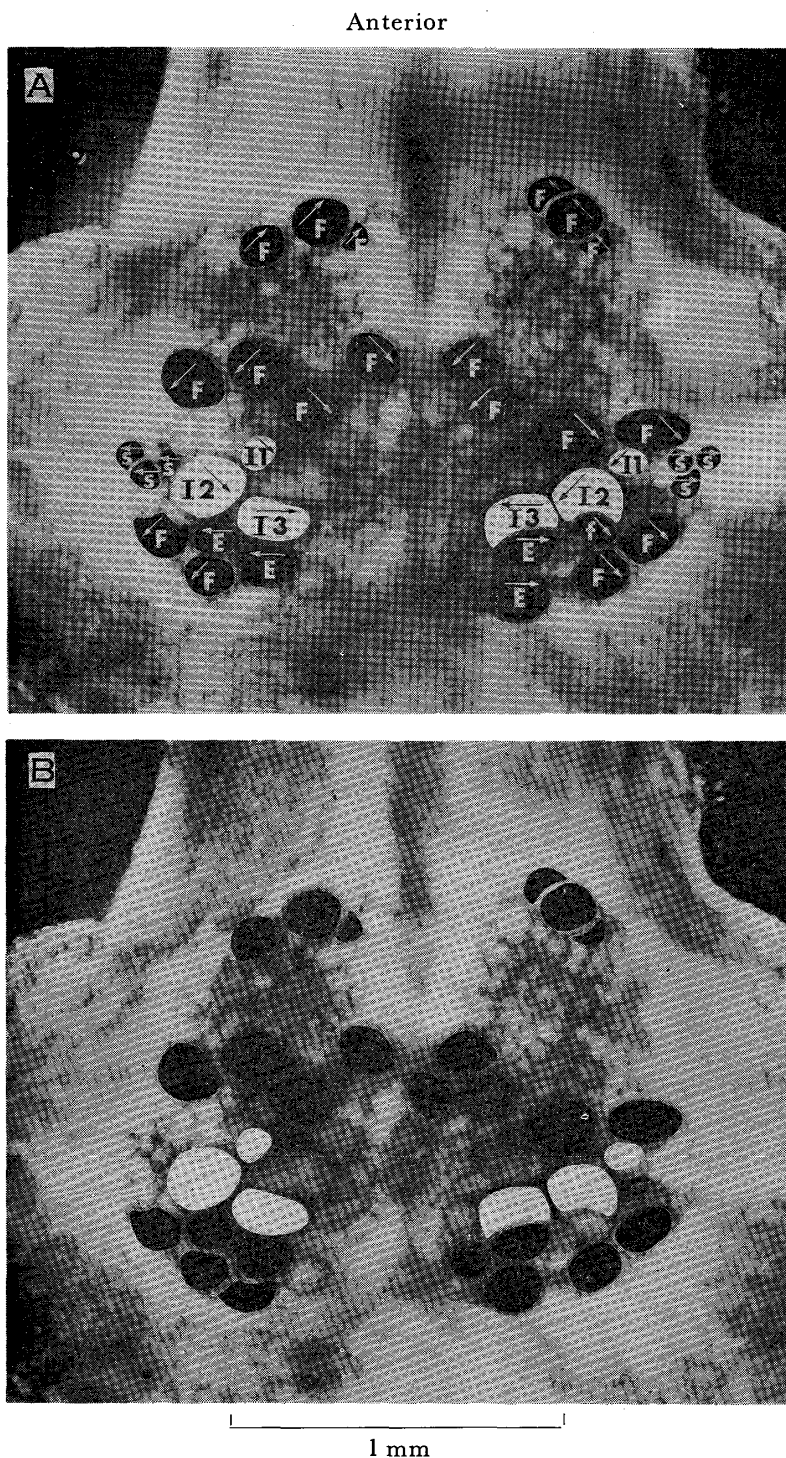
もし GABA が中枢内の多くのシナプスで伝達物質であるとするならば、今日まで GABA 作働性シナプスに作用する薬物についての知識がきわめて乏しいことはむしろ驚くべきことである。ACh 系統においては ACh が発見されるより前からアトロピン、クラール、エゼリンといった特異的な薬物が多数知られていたのに比較して、GABA 系の場合には比較的高濃度で作用する GABA 誘導体のほかにはピクロトキシンがほとんど唯一の薬物である。甲殻類の神経筋接合部では伝達物質証明の実験がいずれも単一ニューロンを対象に行なわれ、したがってその証明力も強いのに比べて(文献⁴⁴⁾⁵²⁾参照)、哺乳類中枢ではその構造が複雑なため単純化された実験は多くの場合困難である。特異的な薬物が発見されてそのシナプス電位に及ぼす影響を観察することによって GABA 作働性シナプスを推定することがもし可能になれば、その発見は今より遙かに容易になるであろう。最近レゼルピンを始めとする交感神経系の薬物が相次いで発見され、この分野に大きな進歩をもたらしたのと同じようなことが、GABA あるいはその他のアミノ酸についても待ち望まれる。

神経系における GABA 分布の研究は、GABA 関連の分野において常に重要な位置を占めてきた(たとえば文献²⁾²⁶⁾⁴⁶⁾)。これには特に次の三つの有利な条件が関係している。

(i) GABA の化学的定量の感度がきわめて高い。ACh については bioassay が化学的定量よりも遙かにすぐれているのとは反対に、GABA の bioassay の感度はごく低い、酵素法によると 5×10^{-12} moles まで測定可能で²³⁾、さらにこれに Lowry の酵素的循環法³⁶⁾を組み合わせた結果 5×10^{-14} moles まで測定することができた⁴⁷⁾。

(ii) 一方 GABA は神経系に驚くべき高濃度に存在する。甲殻類の抑制性神経線維では 0.1 M という高い値が得られているが、哺乳類の中枢でもマウス脳 1 g 当たり $4 \mu\text{moles}^{51)}$ 、サル Substantia nigra では $10 \mu\text{moles/g}$ の GABA が存在する¹⁶⁾。GABA は特定のニューロン内に選択的に存在するであろうから、細胞間隙、グリアなどを考慮に入れると GABA の最高濃度はおそらく 20 mM あるいはそれ以上と想像される。これらの値は ACh の脳内濃度の最高値が $0.04 \mu\text{moles/g}^{37)}$ 、ノルアドレナリンのそれが $0.006 \mu\text{moles/g}^{55)}$ であるのに比較して遙かに高濃度である。

(iii) GABA のシナプス後膜に対する作用はこれまで知られた限りでは常に抑制的である。したがってもしある神経細胞が GABA を高濃度を含むことが示されるならば、それはニューロンの伝達物質についてだけでな



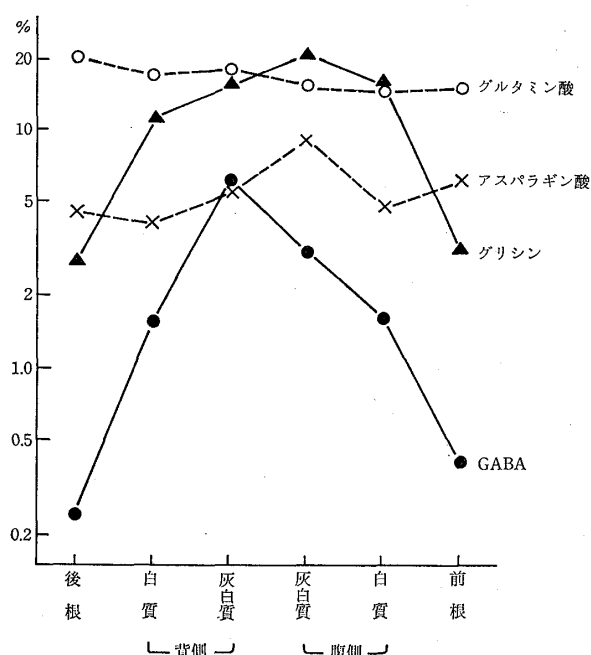
第1図 エビ腹部神経節の生理学的地図Aと化学的地図B。Aにおいて黒く示したのは興奮性、白く示したのは抑制性細胞。F, f, I₁, I₂は屈筋支配, E, I₃は伸筋支配, sは遊泳脚の筋支配。矢印は神経線維が末梢に向かう方向を示す。BではGABAを 2×10^{-11} moles以上含んでいた細胞は白く, GABAを検出できなかった細胞は黒く示してある。最初に電気生理学の実験により生理学的地図を作った後, 個々の細胞を分離, GABA定量を行ない化学的地図を作製した。Otsukaら⁴⁶⁾より引用。

く, その機能が抑制的であることをも示唆するわけで, この点 ACh, ノルアドレナリンよりも有利である。

甲殻類の腹部神経節では多くの細胞が直径 200μ に達し, 単一神経細胞体を分離してその GABA 含有量を測定し, 神経細胞を高濃度の GABA を含むものと, GABA をほとんど含まないものとに分類し, 神経節の化学的地図を作ることができる。電気生理学的方法によってあらかじめ神経細胞の機能を調べておけば, 抑制性の細胞が常に高濃度の GABA を含み, 興奮性の細胞は GABA を含まないことを示すことができる⁴⁶⁾ (第1図)。

哺乳類中枢神経系でも GABA 分布がある程度調べられていて¹⁶⁾²³⁾³³⁾³⁵⁾, たとえば脊髄では灰白質背側部に高濃度に存在することが知られている²¹⁾ (第2図)。しかし甲殻類の場合のように細胞単位で化学的地図を作るとはまだ成功していない。直径 30μ の神経細胞がもし 10 mM の GABA を含むならば GABA の含有量は 1.4×10^{-13} moles となり充分測定可能のはずである。ただし下等動物の神経細胞体とは異なって²⁰⁾哺乳類の神経細胞体の表面には神経終末が附着しているので細胞体を分離してその GABA 量を測定しても, その GABA が細胞体に含まれているのか, あるいは神経終末中に存在するかを区別することは難しい。この問題を解決するためには組織化学的方法によるのが最も理想的であろう。ノルアドレナリンの場合のように¹⁷⁾GABA についても組織化学的検出方法の考案されることが期待される。

他方, GABA 代謝系の酵素を組織化学的に証明することも考えられている。分解酵素の GABA-glutamic transaminase についてはすでに van Gelder の方法があるが⁵⁴⁾, この酵素の分布がどの程度特異的であるかは疑問であって, たとえば甲殻類の興奮性および抑制性神経線維は同程度の transaminase 活性を示す²⁸⁾。これに対して合成酵素である



第2図 ネコ脊髄におけるアミノ酸の分布。縦軸は各部位における総アミノ酸量に対する各アミノ酸の量を%で示した(対数目盛)。Graham ら²¹⁾の実験結果に基づき書き改めた。

glutamic decarboxylase は抑制性神経線維の方が興奮性線維の11倍の活性を持ち²⁸⁾, したがってこの酵素の組織化学的あるいは免疫化学的検出法の開発には期待がもてる。

(3) グルタミン酸

脊髄の運動ニューロン,あるいは甲殻類の神経筋接合部における興奮性伝達物質の重要性はGABAに劣らぬものであろう。しかし多くの研究にもかかわらず興奮性伝達物質とグルタミン酸との関係は依然として釈然としていない。

甲殻類の神経筋接合部ではL-グルタミン酸が興奮性伝達物質であることを示すかなり強力な証拠が得られている。甲殻類の神経系から得られた抽出物を分画した結果,唯一の興奮性物質としてグルタミン酸が同定された²⁷⁾。さらに竹内らの研究⁵²⁾⁵³⁾によるとザリガニの神経筋接合部でグルタミン酸感受性のreceptorの分布はシナプス部位に一致する。また外からグルタミン酸を与えてreceptorのdesensitizationを起こすとシナプス電位も同じように抑制される。すなわち外から与えたグルタミン酸と興奮性伝達物質とは同じreceptorに作用している⁵³⁾。

一方,グルタミン酸は哺乳類中枢の多くのニューロン

を興奮させる。その作用は速やかに現われまた消失する⁸⁾¹⁹⁾²⁹⁾。しかしながらCurtisらはグルタミン酸を脊髄の運動ニューロンに電気泳動的に適用し,その逆転電位とIPSPのそれとが異なった値をとることからグルタミン酸は伝達物質ではありえないと結論している⁶⁾。逆転電位の比較は伝達物質を検討するためのcriteriaの中でも重要な項目の一つであるが,逆転電位が異なるからといって直ちにその物質が伝達物質である可能性を完全に否定することはできない。その一つの理由は,細胞の一点から電流を流した場合,その結果起こる膜電位の変化の程度はニューロンの部位によって異なるため,もし外から与えたグルタミン酸と伝達物質とがそれぞれニューロンの異なる部位(たとえば細胞体と樹状突起)に作用するならば,このような実験条件下では両者の逆転電位が異なって見えても,それぞれの場所では外から与えたグルタミン酸および伝達物質の平衡電位は等しいことがありうるからである³⁷⁾。今一つの理由として神経細胞が一つの物質に対し二種のreceptorを持ち,したがって適用の条件によって二種の逆転電位を示す可能性が考えられ,実際このような例が最近Aplysiaの神経節で発見されている⁵⁷⁾。

一方,グルタミン酸が伝達物質であることを多少でも疑わせる別の事実もある。グルタミン酸は中枢に大量に存在するが,その分布は第2図に見るようにむしろほぼ一様である²¹⁾。また甲殻類の興奮性ニューロンと抑制性ニューロンは大体同程度のグルタミン酸を含んでいる²⁸⁾⁴⁶⁾。これまで知られている限りでは伝達物質はそれを分泌するニューロンに特異的に高濃度に分布するが,もしグルタミン酸が甲殻類の興奮性伝達物質であるとするならば,上の法則の例外ということになる。

次にこれまで知られている伝達物質はいずれも,シナプス後膜に作用を示す化合物の中で最も作用の強い群に属するが,L-グルタミン酸の場合それよりも遙かに強い作用を持つ物質が幾つか知られている。たとえばgammaの脊髄で興奮作用を見るとN-methyl-D-aspartic acidはL-グルタミン酸の70倍強い作用を示す⁹⁾。

いずれにしてもグルタミン酸が興奮性伝達物質とかなり近い関係にあることは疑いないであろう。しかし少しはずれているかもしれない。かつて交感神経系の伝達物質をアドレナリンと考えために長い間混乱が続いたのと似た状況がここにもあるのかもしれない。

Grahamらはアスパラギン酸を興奮性伝達物質と考えているが今後の問題である²¹⁾。

(4) グリシン

これまでそれほど注目されていなかった最も簡単なアミノ酸であるグリシンが、最近になって脊髄運動ニューロンのシナプス後抑制の伝達物質の候補として注目を受けるようになった。運動ニューロンにグリシン、 β -アラニン、GABA を電気泳動的に適用するといずれの場合にも過分極と膜抵抗の減少が起こり、これに伴って細胞膜のCl透過性が上昇する。さらにグリシン、GABA の逆転電位はIPSPのそれに近い値をとることが示された⁷⁾⁵⁸⁾。作用の強さはグリシン> β -アラニン>GABAの順である。さらに注目すべきことはIPSPを遮断するストリキニーネはグリシン、 β -アラニンの作用を抑えるが、GABAの作用には無影響である⁷⁾(第1表)。このほかグリシンは脊髄、ことに灰白質に高濃度に存在し、循環障害によって介在ニューロンが消失するときに脊髄のグリシンの量も同じように減少することなどの事実に基づき¹²⁾、Curtisら⁷⁾およびWerman⁵⁸⁾らはグリシンがシナプス後抑制の伝達物質であろうと述べている。この仮説の正否は今後の研究に待たねばならないが、シナプス後抑制の伝達物質としてGABAよりもグリシンの方が有望に見えることは確かである。

グリシンはまだ哺乳類中枢でしか詳しい検討がなされていないので、下等動物のシナプス、たとえばストリキニーネによって影響を受けるような神経系¹⁾でグリシンの伝達物質としての可能性が検討されることが望ましい。

(5) む す び

今後の生物学の最大の課題である中枢神経系の研究の発展には数多くの革新的研究方法ないし方向が開拓されなければならないであろう。もし上に述べたようなシナプスにおいて伝達物質が明らかになり、それに伴って新しい薬理学、組織化学の分野が開かれるならば、中枢神経系の研究に新しい活気をもたらすであろう。

文 献

- 1) Arvanitaki, A., Chalazonitis, N., Otsuka, M.: C. R. Acad. Sci. (Paris) 243, 307, 1956.
- 2) Bazemore, A., Elliott, K. A. C., Florey, E.: J. Neurochem. 1, 334, 1957.
- 3) Burke, W., Ginsborg, B. L.: J. Physiol. 132, 586, 1956.
- 4) Crawford, J. M., Curtis, D. R.: Brit. J. Pharmacol. 23, 313, 1964.
- 5) Curtis, D. R.: Pharmacol. Rev. 15, 333, 1963.
- 6) Curtis, D. R.: Studies in physiology. ed. Curtis, D. R., McIntyre, A. K., Springer Verlag. p. 34, 1965.
- 7) Curtis, D. R., Hösli, L., Johnston, G. A. R., Johnston, I. H.: Exp. Brain Res. 5, 235, 1968.
- 8) Curtis, D. R., Phillis, J. W., Watkins, J. C.: J. Physiol. 150, 656, 1960.
- 9) Curtis, D. R., Phillis, J. W., Watkins, J. C.: Brit. J. Pharmacol. 16, 262, 1961.
- 10) Curtis, D. R., Ryall, R. W.: Exp. Brain Res. 1, 195, 1966.
- 11) Curtis, D. R., Watkins, J. C.: Pharmacol. Rev. 17, 347, 1965.
- 12) Davidoff, R. A., Graham, L. T., Shank, R. P., Werman, R., Aprison, M. H.: J. Neurochem. 14, 1025, 1967.
- 13) Eccles, J. C.: The Physiology of synapses., Springer Verlag, 1964.
- 14) Eccles, J. C., Schmidt, R. F., Willis, W. D.: J. Physiol. 168, 500, 1963.
- 15) Elliott, T. R.: J. Physiol. 31, XX, 1904.
- 16) Fahn, S., Côté, L. J.: J. Neurochem. 15, 209, 1968.
- 17) Falck, B.: Acta Physiol. Scand. 56, Suppl. 197, 1962.
- 18) Florey, E.: Naturwissenschaften, 44, 424, 1957.
- 19) Galindo, A., Krnjević, K., Schwartz, S.: J. Physiol. 192, 359, 1967.
- 20) Gerschenfeld, H. M.: Z. Zellforsch. mikrosk. Anat. 60, 258, 1963.
- 21) Graham, L. T., Shank, R. P., Werman, R., Aprison, M. H.: J. Neurochem. 14, 465, 1967.
- 22) Hayashi, T., Nagai, K.: 20th Internat. Physiol. Congr. Communications, p. 410, 1956.
- 23) Hirsch, H. E., Robins, E.: J. Neurochem. 9, 63, 1962.
- 24) Hunt, R., Taveau, M.: Brit. Med. J. II 1788, 1906.
- 25) Ito, M.: Studies in physiology. ed. Curtis, D. R., McIntyre, A. K., Springer Verlag. p. 100, 1965.
- 26) Kravitz, E. A., Kuffler, S. W., Potter, D. D.: J. Neurophysiol. 26, 739, 1963.

- 27) Kravitz, E. A., Kuffler, S. W., Potter, D. D., van Gelder, N. M.: J. Neurophysiol. 26, 729, 1963.
- 28) Kravitz, E. A., Molinoff, P. B., Hall, Z. W.: Proc. Natn. Acad. Sci. U. S. 54, 778, 1965.
- 29) Krnjević, K.: Studies in physiology. ed. Curtis, D. R., McIntyre, A. K., Springer Verlag. p. 144, 1965.
- 30) Krnjević, K., Radić, M., Straughan, D. W.: J. Physiol. 184, 78, 1966.
- 31) Krnjević, R., Schwarz, S.: Exp. Brain Res. 3, 320, 1967.
- 32) Kuno, M., Rudomin, P.: J. Physiol. 187, 177, 1966.
- 33) Kuriyama, K., Harber, B., Siskin, B., Roberts, E.: Proc. Natn Acad. Sci. U. S. 55, 846, 1966.
- 34) Loewi, O.: Pflüger's Arch. ges. Physiol. 189, 239, 1921.
- 35) Lovell, R. A., Elliott, S. J., Elliott, K. A. C.: J. Neurochem. 10, 479, 1963.
- 36) Lowry, O. H., Passonneau, J. V., Schulz, D. W., Rock, M. K.: J. Biol. Chem. 236, 2746, 1961.
- 37) MacIntosh, F. C.: J. Physiol. 99, 436, 1941.
- 38) McGeer, E. G., McGeer, P. L., McLennan, H.: J. Neurochem. 8, 36, 1961.
- 39) Obata, K.: Abstr. 23rd Internat. Physiol. Congr. p. 406, 1965.
- 40) 小幡邦彦: 生体の科学, 18, 289, 1967.
- 41) Obata, K., Ito, M., Ochi, R., Sato, N.: Exp. Brain Res. 4, 43, 1967.
- 42) 小幡邦彦・武田敬介: 第45回日本生理学会総会, 1968.
- 43) 小幡邦彦・武田敬介: 日本薬理学会第38回関東部会, 1968.
- 44) 大塚正徳: 生体の科学, 18, 274, 1967.
- 45) Otsuka, M., Iversen, L. L., Hall, Z. W., Kravitz, E. A.: Proc. Natn. Acad. Sci. U. S. 56, 1110, 1966.
- 46) Otsuka, M., Kravitz, E. A., Potter, D. D.: J. Neurophysiol. 30, 725, 1967.
- 47) 大塚正徳・田中百合子・小幡邦彦: 第11回日本神経化学会, 1968.
- 48) Peart, W. S.: J. Physiol. 108, 491, 1949.
- 49) Robbins, J., van der Kloot, W. G.: J. Physiol. 143, 541, 1958.
- 50) Roberts, E., Frankel, S.: J. Biol. Chem. 187, 55, 1955.
- 51) Roberts, E., Harman, P. J., Frankel, S.: Proc. Soc. exp. Biol., N. Y., 78, 799, 1951.
- 52) 竹内 昭: 生体の科学, 18, 297, 1967.
- 53) Takeuchi, A., Takeuchi, N.: J. Physiol. 170, 296, 1964.
- 54) van Gelder, N. M.: J. Neurochem. 12, 231, 1965.
- 55) Vogt, M.: J. Physiol. 123, 451, 1954.
- 56) von Euler, U. S.: Acta Physiol. Scand. 12, 73, 1946.
- 57) Wachtel, H., Kandel, E.: Science 158, 1206, 1967.
- 58) Werman, R., Davidoff, R. A., Aprison, M. H.: J. Neurophysiol. 31, 81, 1968.