

# 28SI-am04

全般てんかん発症と細胞質に存在するホモ二量体神経型一酸化窒素合成酵素 (nNOS) の関係

○宮井 明日香<sup>1</sup>, 渡邊 正知<sup>1</sup>, 伊藤 康一<sup>1</sup>(<sup>1</sup>徳島文理大香川薬)

【目的】 てんかん分類中で全般てんかんの発症機構は、未だ不明な点が多い。我々は、全般てんかんモデルとしてペンテトラゾール (PTZ) 誘発キンドリング動物を用い、nNOS による一酸化窒素 (NO) 過剰産生が全般てんかん発作に関与している事を報告した。本研究では、全般てんかん発症における過剰 NO 産生の分子機構解明を目的とした。Ca<sup>2+</sup> 依存的な nNOS の活性化には、そのホモ二量体形成が必須である。そこで、PTZ キンドリングマウスにおける nNOS 活性制御と二量体形成機構との関係を解析した。

【方法】 雄 ICR マウスに PTZ (40 mg/kg, i.p.) を 1 日 1 回反復投与し、間代-強直性痙攣が 3 回連続した時点でキンドリング獲得とした。獲得後脳を摘出し、大脳皮質・海馬・小脳に分割後、等密度ショ糖遠心分離法にて細胞質と細胞膜に分画した。nNOS 二量体と単量体とに分離するため冷却 SDS-PAGE を用い分離後、免疫ブロット法で nNOS を検出し、それぞれの発現パターンを Quantity One (Bio-Rad) にて定量解析した。

【結果及び考察】 キンドリング獲得時の nNOS 発現量は、約 1.5 倍大脳皮質でのみ有意な増加が認められた。この nNOS の局在を細胞質と細胞膜分画を用いて検討した。その結果、nNOS の発現量は細胞質分画で顕著に増加している事が確認された。さらに、その細胞質分画での nNOS はホモ二量体を形成していることが明らかとなった。今まで nNOS が細胞質に多量に存在している事は知られていたが、その役割についてはほとんど注目されていなかった。本研究は、PTZ キンドリングマウスにおいて、大脳皮質の神経細胞質分画に存在するホモ二量体の nNOS が増加し、その結果過剰な NO が産生される事を明らかにした。