

演題5. マウス中枢モノアミン神経系代謝におよぼす  
リドカインの影響

○青村 知幸, 工藤 啓吾, 伊藤 忠信\*

岩手医科大学歯学部口腔外科学第一講座  
岩手医科大学歯学部歯科薬理学講座\*

中枢神経系に対するリドカインの効果は複雑であり、少量投与の場合は抗痙攣作用を示し、大量投与では、間代性痙攣を引き起こすという投与量に依存した2相性を示すことが知られている。しかし、リドカインが中枢神経伝達物質代謝に関しても、2相性の影響を及ぼすかどうかについては不明である。本実験ではマウスに非痙攣量(4, 20 mg/kg)と痙攣量(80 mg/kg)のリドカインを投与し、中枢モノアミン神経系に対する影響について検討した。実験動物としては、ddy系雄性マウスを用い、1群を9匹とし、各群に、4, 20, 80 mg/kgのリドカインを腹腔内投与した。投与5, 10, 20, 60分後に線条体、視床下部、大脳皮質、海馬を摘出し、それぞれの脳内モノアミン及び関連代謝物質の含量を測定した。非痙攣量である4 mg/kg, 20 mg/kg投与群では、特に全身状態の変化は観察されなかった。痙攣量である80 mg/kg投与群では投与2~3分後に歩行失調や正向反射が消失した。間代性痙攣は6~7分後に発現し、20~30分後に消失した。本実験では、MHPG, HVA含量は、非痙攣量投与群ではリドカイン投与5分後、10分後と減少し、20分後以降にコントロールレベルに回復した。それに対し、痙攣量投与群では、投与10分後以降に経時的増加が認められた。また投与10分後に線条体、視床下部、大脳皮質のMHPGと大脳皮質のHVAが非痙攣量で減少し、痙攣量で増加した。また同様の2相性的傾向がいくつかの脳部位で認められた。以上の結果から、リドカイン非痙攣量投与時の脳内モノアミンの代謝低下は中枢神経系に対する直接作用で、一方、痙攣量投与時の代謝亢進は痙攣発現に伴う2次的な変化である可能性が示唆される。リドカインの中枢神経系に対する2相性作用は、電気生理学および行動薬理学的研究においても認められており、本実験の結果はそれらの知見と一致している。

演題6. ヒト顎下腺腺癌細胞株(HSG)におけるRXR  
ファミリー発現の検討○客本 斉子, 根本 孝幸, 星野 正行  
佐藤 詔子, 太田 稔

岩手医科大学歯学部口腔生化学講座

HSG細胞の増殖はビタミンA誘導体であるall-transレチノイン酸(RA)により制御されるが、その作用は、核内レチノイン酸レセプター(RAR)と標的遺伝子プロモーター領域に存在するレチノイン酸レスポンスエレメント(RARE)との結合に始まる。また最近の研究から、RARがRAREと結合する際には、レチノイドX/9-CisRAレセプター(RXR)とのヘテロダイマー形成が必要であるということが明らかとなってきた。私共はこれまでに、*in vitro*翻訳RAR $\alpha$ , RXR $\alpha$ を用いてRARE上でのRAR・RXRヘテロダイマー形成を確認するとともに、HSG細胞核抽出画分がRAREと強く結合することを見出した。そこで今回は、HSG細胞核抽出画分とRAREとの結合を詳細に検討し、続いて、核内に発現するとみられる数種のRXRファミリーのクローニングを試みた。方法: ①HSG細胞核の0.4 M KCl抽出画分をRAR含有画分として[ $\gamma$ - $^{32}$ P]ATP標識したRAR $\beta$ 遺伝子の上流RARE( $\beta$ RARE)と結合後、ゲルシフト電気泳動法を行い結合バンドを検出した。②RXRのDNA結合領域約400 bpをはさむsenseならびにantisenseプライマーを合成し、HSG細胞のmRNAの逆転写反応により合成したcDNAを鋳型に、polymerase chain reaction(PCR)を行った。増幅された約400 bpフラグメントをプラスミドベクターにクローニングし、大腸菌をトランスフォームさせた。これにより得られた、組換え体を持つコロニーからプラスミドをそれぞれ調製し、ジデオキシ法により塩基配列の決定を行った。結果: ①ゲルシフト法の結果、HSG細胞核抽出画分は $\beta$ RAREと用量依存的に、かつ特異的に結合した。また、結合バンドにはheterogeneityがみられ、複数のRXR分子の発現が示唆された。②PCRクローニングの結果、RXR $\alpha$ ,  $\beta$ ならびにRA作用の抑制に関与するといわれているchicken ovalbumin upstream promoter transcription factor(COUP-TF)が発現することが明らかとなった。結論: HSG細胞にはRXR $\alpha$ , RXR $\beta$ , COUP-TFが発現し、これらがRARと共同し、増殖制御などのレチノイン酸の発現を担っているものと考えられる。