

MS-I-4

培養ラット小脳顆粒細胞における NO-donor誘導神経細胞死に対する釣藤鈎の保護作用

富山医科薬科大学・医学部・和漢診療学¹⁾，
富山医科薬科大学・和漢薬研究所・漢方診断学²⁾，ツムラ漢方生薬研究所³⁾
○嶋田 豊¹⁾，横山浩一¹⁾，後藤博三²⁾，榊原 巖³⁾，酒井伸也¹⁾，萬谷直樹¹⁾，
関矢信康¹⁾，寺澤捷年¹⁾

【目的】脳虚血によって過剰に放出されたグルタミン酸が神経細胞のNMDA受容体などのグルタミン酸受容体を刺激し，この結果nNOSが過度に活性化され大量に産生されたnitric oxide (NO) が神経細胞死に関与すると考えられている。またこの過程において，濃度上昇したサイトカインがグリア細胞に作用しiNOSの活性化によって産生したNOの関与も考えられている。我々は既に，in vitroの実験系において釣藤鈎エキスがグルタミン酸添加によって生ずる神経細胞死を抑制することを報告した。今回は，NO-donorによって誘導される神経細胞死に対する釣藤鈎の保護作用について検討した。

【方法】培養ラット小脳顆粒細胞にNO-donorであるsodium nitroprusside (SNP) または3-morpholinopyridone (SIN-1) を添加し神経細胞死を誘導した。NO-donor添加の10分前に釣藤鈎 (*Uncaria sinensis*) の水製エキスを添加し，NO-donor誘導神経細胞死に対する保護作用を検討した。さらに，釣藤鈎エキスのフェノール画分及びアルカロイド画分についても検討した。細胞生存率の評価にはMTT法を用いた。

【結果】まず，NO-donorの濃度を変えて培養小脳顆粒細胞に24時間添加し，それに対する釣藤鈎エキスの効果を検討した。釣藤鈎エキス 10^{-5} ， 3×10^{-5} ， 10^{-4} g/mlの何れかの濃度は，SNP (10, 30, 100 μ M) 24時間添加によって生ずる神経細胞死を有意に抑制し，SIN-1 (300 μ M) 24時間添加による神経細胞死を有意に抑制した。経時的観察では，SNP (30 μ M) 及びSIN-1 (300 μ M) は3時間を過ぎてから神経細胞死を生じ，かつ6, 12, 24時間で釣藤鈎エキス (10^{-5} ， 3×10^{-5} ， 10^{-4} g/ml) は神経細胞死を有意に抑制した。また，SNP (30 μ M) またはSIN-1 (300 μ M) 24時間添加による神経細胞死を釣藤鈎フェノール画分及び釣藤鈎アルカロイド画分は 10^{-5} ， 3×10^{-5} ， 10^{-4} g/mlの何れかの濃度で有意に抑制した。

【考察・結論】脳虚血に伴う神経細胞死の過程におけるNOの関与が知られている。今回の成績から，釣藤鈎エキスはNO-donorによって誘導される神経細胞死に対して保護作用を有し，その活性は釣藤鈎のフェノール及びアルカロイド成分であることが示唆された。