

バルプロ酸による脳内代謝変化とその薬理的メカニ
ズムに関する研究

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2009-04-30 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 村田, 哲人, 丸岡, 伸行, 藤林, 康久 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10098/2020

バルプロ酸による脳内代謝変化とその薬理的メカニズムに関する研究

研究代表者：村田 哲人（医学部医学科、准教授）

電話：0776-61-8363、メールアドレス：tmurata@u-fukui.ac.jp

共同研究者：丸岡 伸行（医学部医学科、協力研究員）、藤林 康久（高エネルギー医学研究センター、教授）

概 要	
	近年、抗てんかん作用に加えて、気分安定薬としての有用性が注目されているバルプロ酸の脳内代謝活動への直接的な影響について、ラット新鮮脳切片を用いて評価した。バルプロ酸（ $\geq 10\text{mM}$ ）投与により、対照群に比べてポジトロン核種 ^{18}F を含むグルコースアナログ（ ^{18}F FDG）の取り込みが増加した。またバルプロ酸（ $\geq 30\text{mM}$ ）投与により、対照群に比べミトコンドリア機能（テトラゾリウム塩 WST-1 の還元能）が有意に低下した。以上の結果より、バルプロ酸によってミトコンドリアでの好氣的糖代謝が低下し、代償的に嫌氣的糖代謝が亢進したと考えられた。これら脳内代謝活動の変化が、バルプロ酸の薬理作用および中枢神経系副作用（Reye 症候群などの代謝性脳症やパーキンソン症候群など）の発症機序に関与している可能性が示唆された。
関連キーワード	バルプロ酸、ライ症候群、バルプロイル CoA、グルコース代謝、ポジトロン

研究の背景

バルプロ酸は元来抗てんかん薬として使用されてきたが、近年では気分安定化作用が注目され、躁うつ病などの精神疾患の治療に広く用いられるようになった短鎖脂肪酸である。バルプロ酸による中枢神経系の副作用として、Reye 症候群などの代謝性脳症やパーキンソン症候群が報告されている。そのメカニズムとして脳内のミトコンドリアが直接的に傷害される可能性が指摘されているが、実際どのような機序で、脳細胞のミトコンドリアを傷害するのかが不明である。肝臓ではバルプロ酸が脂肪酸の分解（ β 酸化）によってアシル CoA 体であるバルプロイル CoA に変わり、このバルプロイル CoA がミトコンドリアに対して毒性に働き、ミトコンドリアのさまざまな酵素活性が阻害されると考えられている。しかし、脳ではバルプロイル CoA は検出されな

かったとの報告も有り、脳内でもバルプロイル CoA の蓄積が脳細胞のミトコンドリア機能低下を引き起こすのかどうかは不明である。

研究代表者らは、ポジトロン標識化合物である ^{18}F 2-fluoro-2-deoxy-D-glucose (^{18}F FDG) をグルコース代謝のトレーサーとして、神経機能を維持しているラット脳切片におけるグルコース代謝を動的な 2 次元画像情報として描出できる新しい機能解析法 (dynamic positron autoradiography technique, dPAT) に着手してきた。PET やオートラジオグラフィ法を用いた *in vivo* での計測とは異なり、脳切片を用いた dPAT の実験系（循環動態や末梢組織代謝などを有さない）では、バルプロ酸による脳組織のグルコース代謝への直接的な作用を、灌流液や薬剤負荷の条件を任意に制御しながら定量評価することが可能である。

研究の目的

バルプロ酸の作用機序および中枢神経系副作用（Reye 症候群などの代謝性脳症やパーキンソン症候群など）のメカニズムを探るため、ラット脳切片に対して dPAT を用いた ^{18}F FDG 取り込み実験およびテトラゾリウム塩 WST-1 を用いた比色分析法によるミトコンドリア機能の測定を行い、バルプロ酸に

よる脳内代謝活動（グルコース代謝、ミトコンドリア機能）への直接的な影響について評価し、バルプロ酸の作用機序の解明および副作用の少ないより有用なバルプロ酸治療に向けての礎を築くことを目的とする。

研究の成果

1) dPAT を用いたラット脳切片の $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ 取り込みの測定 (図1)

Wistar 系雄性ラット7週齢より脳を摘出し、マイクロスライサーを用いて 300 μm 厚の矢状断脳切片を作成した。150 kBq/ml に希釈された $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ を含む Krebs-Ringer 溶液 (36°C) を灌流用の容器内に入れ、脳切片をインキュベートした。灌流液は 95% O_2 /5% CO_2 ガスで持続的にバブリングした。灌流用容器をラジオルミノグラフィープレート (BAS-MP 2040S, 富士フィルム社製) の上に置き、経時的な放射能集積画像を得た。露光されたプレートは画像解析装置 (FLA-7000, 富士フィルム社製) によって読み取り、同社製ソフトウェアの Multi Gauge Ver3.0 を用いて解析した。その結果、10mM 以上のバルプロ酸を投与した場合、対照群に比べ $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ 取り込みが増加した。

2) テトラゾリウム塩 WST-1 を用いた比色分析法によるミトコンドリア機能の検討 (図2)

テトラゾリウム塩 WST-1 は、ミトコンドリアの呼吸鎖に属する脱水素酵素 (succinate-tetrazolium reductase システム) により還元され、水溶性ホルマザン色素を生じる。この発色を比色定量することにより、バルプロ酸による脳切片のミトコンドリア機能の変化を測定した。dPAT と同一の灌流装置を用いてバルプロ酸および WST-1 を含む灌流液で脳切片をインキュベートし、組織中の発色を分光光度計で測定した。その結果、30mM 以上のバルプロ酸を投与した場合、ミトコンドリア機能が対照群に比べて有意に低下した。

図1

◆ : 対照群 (n=5)、× : バルプロ酸投与群 (n=5)

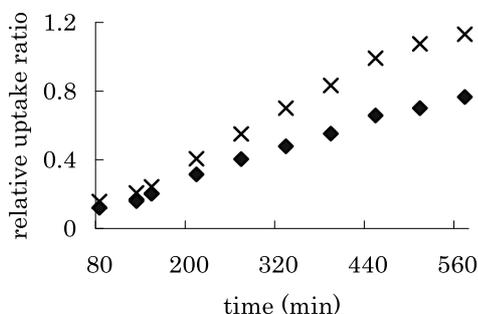
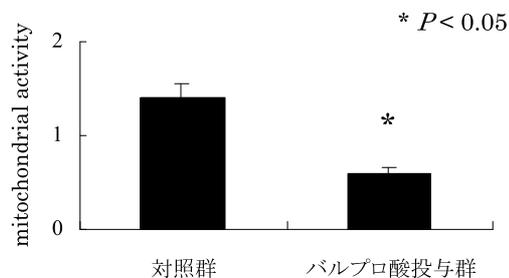


図2 対照群 (n=5)、バルプロ酸投与群 (n=5)



1)、2) の結果をまとめると、バルプロ酸によりミトコンドリアでの好氣的糖代謝が低下したため、代償的に嫌氣的糖代謝が亢進したと考えられた。これら脳内代謝活動の変化が、バルプロ酸の薬理作用および中枢神経系副作用 (Reye 症候群などの代謝性脳症やパーキンソン症候群など) の発症機序に関与している可能性が示唆された。

特記事項・発表論文など

「本研究に関わる発表論文」

1. Maruoka N, Murata T, Omata N, et al.: Effects of vitamin E supplementation on plasma membrane permeabilization and fluidization induced by chlorpromazine in the rat brain. *J Psychopharmacol* 22:119-127, 2008.
2. Omata N, Murata T, Takamatsu S, et al.: Neuroprotective effect of lithium treatment

against hypoxia in specific brain regions with upregulation of CREB and BDNF but not NGF: comparison with acute lithium treatment. *Bipolar Dis* 10:360-368, 2008.

3. Murata T, Maruoka N, Omata N, et al.: A comparative study of the plasma membrane permeabilization and fluidization induced by antipsychotic drugs in the rat brain. *Int J Neuropsychopharmacol* 10:683-689, 2007.