

## エゼリンフリー In vivo microdialysis による 海馬アセチルコリン放出の測定

\* このドキュメントは、ビー・イー・エス(株)主催によるECセミナーの抄録です。  
ECセミナーに関してのお問い合わせは、[sales@basj.com](mailto:sales@basj.com)にお願い致します。

横浜市立大学 大学院総合理学研究科分子認識部門

加藤 武

アセチルコリンは記憶学習に深く関わっています。老人性痴呆症はアミロイド、apolipoprotein E4 の形成異常に伴った、神経脱落が原因であるとの説が有力視されています。しかしアセチルコリンあるいはコリン作動性神経の活動と痴呆症の関係を切り離すことはできません。最近では apolipoprotein E4 とアセチルコリンとの関係も報告されています。一方、海馬において LTP, LTD と記憶の関係が神経生理学者によってグルタメート、GABA を中心に研究されていますが、中隔-海馬神経回路のアセチルコリン放出が重要な役割を担っていることは言うまでもないことです。

in vivo microdialysis によるアセチルコリン放出の測定は現在では電気化学的な方法が主流になっています。分離したアセチルコリンを固定化した Acetylcholinesterase/Choline oxidase で H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> に変換し、白金電極 + 450 mV/Ag/AgCl で酸化的に測定する方法です。この方法でも 20-50 fmol アセチルコリンを測定することはでき、私たちは既に報告して来ました(Liu and Kato)。

in vivo microdialysis によるアセチルコリン放出をより生理的条件下で測定するためには、acetylcholinesterase 阻害剤 eserine (physostigmine), neostigmine を用いない更に高感度な測定法の開発が必要でした。今回のセミナーで既に説明がなされているように、1992年に Vreeke らが Os-HRP-polymer 電極を開発し(M. Vreeke et al.)、1995年には Kissinger らのグループが microdialysis によるアセチルコリン放出を線条体で eserine free で測定できることを報告しています(T. Huang et al.)。私共も一部測定方法を改良し、大脳皮質、海馬でも高感度に測定できることを報告しました(T. Kato et al.)。

in vivo microdialysis によるアセチルコリン放出を eserine free で測定することが必要か否かに対する答えはあまりありません。一部の報告で自己受容体の抑制がかかっており、そのような実験には使用できないと思います。ようやく eserine free でのアセチルコリン測定が容易に測定できるようになり、色々な方面での使用が期待されます。

今回は先に発表しました J. Chromatogr. のデータと、先日スエーデンのカロリンスカ研究所で薄膜電極を用いたラット海馬でのアセチルコリン放出を測定しましたのでその結果について述べる予定です。この電極は連続使用した場合には1週間程度 10 fmol の海馬内アセチルコリン放出が測定できます。白金と同様に検出感度は時間と共に減少しますが、使用2日目では4 fmol 程の感度まで充分測定することが可能です。

#### References

J.K. Liu and T. Kato, *Neurochem. Int.*, 24, 589(1994).

M. Vreeke, R. Maidan and A. Heller, *Anal. Chem.*, 64, 3084(1992).

T. Huang, L. Yang, J. Gitzen, P.T. Kissinger, M. Vreeke and A. Heller, *J. Chromatogr. B*, 670, 323 (1995).

T. Kato, J.K. Liu, K. Yamamoto, P.G. Osborne and O. Niwa, *J. Chromatogr. B*, (in press).