電気刺激によって放出された神経伝達物質グルタミン酸の時間分解計測**Time-Resolved Monitoring for Glutamate Released by Weak Electrical Stimuli**東北大学大学院医工学研究科¹, 東北大学電気通信研究所²○松村亮佑¹, 平野愛弓¹, 木村康男², 庭野道夫^{1,2}Graduate School of Biomedical Engineering, Tohoku University.¹, RIEC, Tohoku University.²○Ryosuke Matsumura¹, Ayumi Hirano-Iwata¹, Yasuo Kimura², Michio Niwano^{1,2}

E-mail: ahirano@bme.tohoku.ac.jp

【緒言】中枢神経系においてグルタミン酸は主要な興奮性神経伝達物質であり、記憶や学習、神経可塑性と深く関係しているといわれている。またグルタミン酸は様々な神経疾患とも関わっており、脳内でグルタミン酸の濃度変化を測定することはとても重要である。近年、マウスの海馬において微小電流刺激によって誘起されたグルタミン酸放出量をガラスキャピラリーを用いた酵素センサで計測する方法が示された。[1]しかし、センサの信号に電気刺激由来の信号成分が含まれている可能性については調べられてこなかった。そこで本研究ではグルタミン酸センサの信号とグルタミン酸に不活性なブランクセンサでの信号の応答を比較し、グルタミン酸への応答であるファラデー電流を抽出する方法を創案したので、ここに報告する。

【実験】グルタミン酸センサは、グルタミン酸オキシダーゼ修飾電極を作用電極とし、参照電極、補助電極をアスコルビン酸オキシダーゼを内封したキャピラリー内に入れて作製した。同様にブランクセンサを、グルタミン酸オキシダーゼを修飾しない電極を作用電極とし作製した。刺激電極と記録電極、グルタミン酸センサまたはブランクセンサを急性マウス海馬スライスに挿入し、興奮性シナプス後電位とグルタミン酸電流の同時計測を行った。基本刺激として 0.033 Hz の電気刺激を用い、グルタミン酸放出量の計測には 2 Hz の電気刺激を 2 分間与えた。

【結果・考察】はじめにグルタミン酸センサとグルタミン酸に不活性なブランクセンサを海馬スライスに設置し、電気刺激を加えた時の応答電流を比較した。グルタミン酸電極の場合、刺激直後に一過性の下向き電流を示した後上向き電流が発生し、ピーク電流値に到達した後なだらかに降下し、ベースラインに戻った。ところがブランク電極でも同じような電流波形が見られ、ファラデー電流がノンファラデー電流と重なっていることが分かった。そこで観測される容量性電流が実質的にゼロとなる点を観測することでグルタミン酸の応答電流を抽出した。この解析方法を用いた結果、グルタミン酸センサでは 2 Hz 刺激に対して明瞭な応答が見られたがブランクセンサでは有意な応答は見られなかった。この方法の妥当性について、グルタミン酸放出量を増減させる様々な刺激プロトコルを用いて検証した。発表では、本手法を神経可塑性現象の一種である長期増強現象に適用した例についても報告したい。

[1] S. Hozumi, K. Ikezawa, A. Shoji, A. Hirano-Iwata, T. Bliss and M. Sugawara, Biosens. Bioelectron., 26, , 2975–2980 (2011).