

## バナジウム長期投与による脳への影響

中西由季子<sup>1)</sup>・川村美笑子<sup>1)</sup>・井戸達雄<sup>2)</sup>・岩田 錬<sup>2)</sup>・木村修一<sup>1)</sup>  
(東北大学, <sup>1)</sup>農学部栄養学\*, <sup>2)</sup>サイクロトロン・RIセンター核薬学\*\*)

### Effects of Vanadate Chronic Administration on Rat Brains

Yukiko NAKANISHI<sup>1)</sup>, Mieko KAWAMURA<sup>1)</sup>, Tatsuo IDO<sup>2)</sup>, Ren IWATA<sup>2)</sup> and Syuichi KIMURA<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Faculty of Agriculture and <sup>2)</sup>Cyclotron and Radioisotope Center, Tohoku University

To evaluate the effects of vanadate chronic oral-administration on rat brains, releases of acetylcholine (ACh) and metabolites of dopamine, 3, 4-dihydroxy phenyl acetic acid (DOPAC) and homo vanillic acid (HVA), were measured by *in vivo* brain microdialysis. After chronic administration, ACh release in striatum was reduced to 58.4% of controls, whereas in hippocampus it wasn't. No change in DOPAC release was observed in chronic administered rats, but the HVA release was reduced. The metabolisms of ACh and dopamine were affected by chronic vanadate administration.

著者らは、3ヶ月に及ぶバナジウムの長期投与が、ラットの脳においてムスカリン性アセチルコリンレセプターの親和性を低下させること、脳細胞内外アスコルビン酸濃度を低下させること<sup>1)</sup>を見いだしている。そこで、今回は、マイクロダイアリシス法<sup>1,2,3)</sup>を用い、脳細胞外液中への神経伝達物質の遊離量を測定し、バナジウム長期投与が中枢神経系に及ぼす影響について検討した。

## 方 法

### 1. 実験動物

生後5週齢のウィスター系雄ラットを2群に分け、バナジウム長期投与群と非投与群とした。飲料水として、バナジウム長期投与群にはバナジウム水溶液 (Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub>, 100ppm) を、非投与群には蒸留水を与え、市販の粉末飼料 (日本クレア(株)) を自由摂取させ、4ヶ月間飼育した。

\*所在地：仙台市青葉区堤通雨宮町1-1 (〒981)

\*\*所在地：仙台市青葉区荒巻字青葉 (〒980)

## 2. マイクロダイアリス法による神経伝達物質の測定

飼育終了後、ラットをペントバルビタール (10mg/kg i.p.) で麻酔して脳定位固定装置に固定し、ラット脳アトラス<sup>4)</sup>に基づいて、線条体 (Bregma +0.2mm, 左 3 mm, 深さ4.5mm) 及び海馬 (Bregma -4.8mm, 左 5 mm, 深さ 5 mm) にガイドカニューレを固定した。

測定時に、透析用プローブ (エイコム社) をガイドカニューレに挿入し、自由運動下に、灌流液をマイクロインフュージョンポンプで 2  $\mu$ l/min の流速で流し、透析液を一定時間毎に回収して分析試料とした。

神経伝達物質の測定は下記によった。

## a) アセチルコリン (ACh) 測定条件

カラム：プレカラム+分離カラム (AC - Gel) + 酵素カラム (AC - Enzymapak)

移動相：0.1M リン酸緩衝液 pH8.5

1-デカスルホン酸ソーダ 200mg/l

テトラメチルアンモニウムクロライド 65mg/l

流速：1 ml/min

温度：33°C (CTC -100)

検出器：ECD-100 白金電極 (WE-PT) +450mV vs Ag/AgCl

灌流液：Ringer 液 +  $10^{-4}$ M エゼリン硫酸

## b) ドパミン代謝物測定条件

カラム：プレカラム付きカラム (Eicompak MA-5 ODS)

移動相：0.1M クエン酸-0.1M 酢酸ナトリウム pH3.9 (85%)

メタノール (15%)

オクタスルホン酸ソーダ 160 mg/l

EDTA (2 Na) 5 mg/l

流速：1 ml/min

温度：25°C (CTC-100)

検出器：ECD-100 グラファイト電極 (WE-3G) +650mV vs Ag/AgCl

灌流液：Ringer 液

3,4-ヒドロキシフェニル酢酸 (DOPAC) とホモバニリン酸 (HVA) は、同一サンプルを分離カラムで分離し、同時に検出・測定を行った。

## 結果と考察

バナジウム長期投与群では、実験飼育後 1 ヶ月頃から成長が抑制されはじめ、4 ヶ月後には非投与群の体重より低値を示す傾向が認められた (Fig. 1)。

先に、我々は、バナジウム長期投与ラットでは脳細胞内外アスコルビン酸 (AsA) 濃度が顕著に低下していることを報告している<sup>1)</sup>。ACh の細胞外への遊離は、AsA 濃度に依存する<sup>5)</sup>と考えられていることから、本実験ではマイクロダイアリス法を用いて脳細胞外液中への ACh 遊離量を測定した。

ACh が比較的高濃度に存在している線条体を指標とし、バナジウム非投与群の線条体細胞外液中への ACh 遊離量を100%として比較・検討した。バナジウム長期投与群の線条体細胞外液中への ACh 遊離量は、非投与群の58.4%を示し、有意な低下が認められた。バナジウム長期投与群において、海馬での ACh 遊離量は、非投与群の線条体での遊離量を基準にすると17.3%を示した。非投与群では、21.2%を示した。線条体での ACh 遊離量の減少が海馬にも反映されるものと予測していたが、実際には、海馬では、非投与群での遊離量のレベルは維持されていた (Fig. 2)。

以上の結果並びにバナジウム投与による脳組織中ドパミンの変動が局所的であると述べた Sharma ら

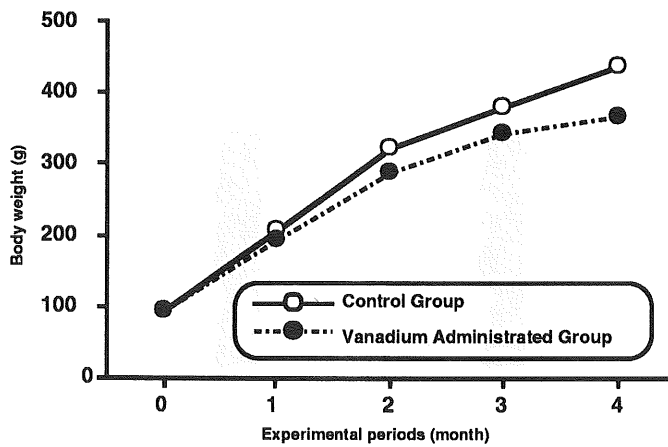


Fig. 1. Effect of vanadium administration on body weight of wistar rats.

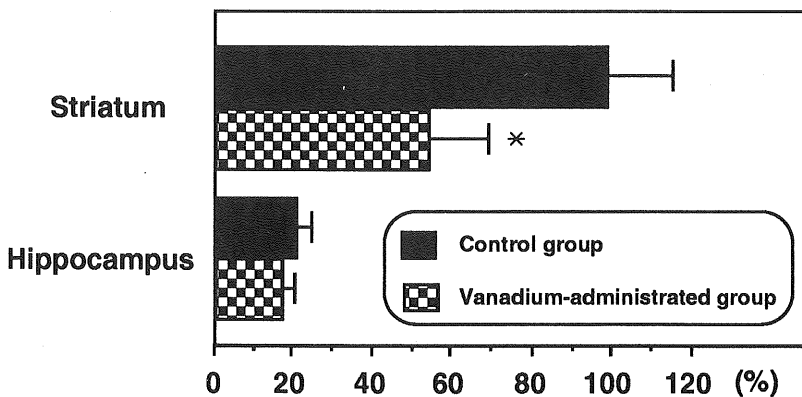


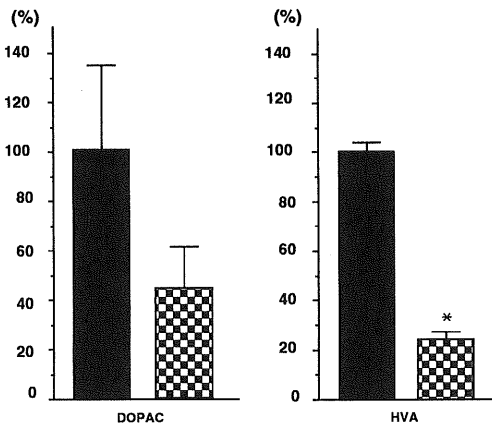
Fig. 2. Acetylcholine concentration ratio [Vanadium/Control] in extracellular of rat brain by microdialysis.

\*:  $p < 0.01$  (N = 3)

の報告<sup>6)</sup>も考えあわせると、バナジウムが脳全体に対して一様に作用して中枢神経系に影響を与えるのではなく、局所的に作用する可能性が高いといえよう。

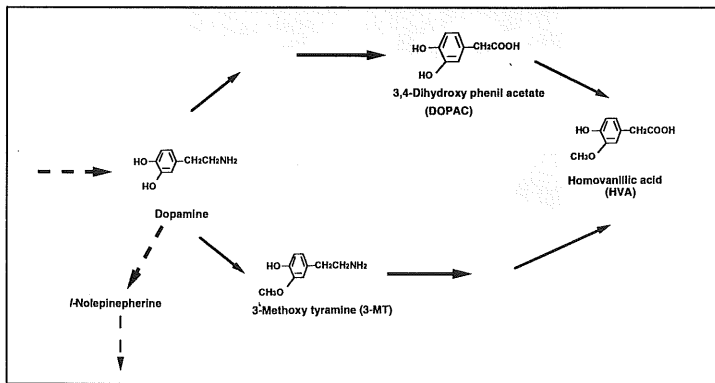
次に、AChの変動が認められた線条体におけるドーパミン代謝物の動きについても検討を行ったが、ドーパミンの中間代謝物であるDOPACの遊離量低下は認められなかった。しかし、最終代謝物であるHVAの遊離量は、バナジウム長期投与群は、非投与群の24.3%を示した (Fig. 3)。しかし、DOPACの個体差が大きく認められることにより、例数を重ねてさらに検討が必要であると思われる。

ドーパミンからHVAへの代謝経路は、DOPACを経る経路と3-メトキシチラミン (3-MT) を経る経路の2通りである (Fig. 4)。最終代謝物であるHVAの遊離量が低下しているにもかかわらず、中間代謝物のDOPACの低下が認められないことから、もう一方の中間代謝物である3-MTの低下が予測され



**Fig. 3.** DOPAC (left) and HVA (right) concentration ratio [Vanadium/Control] in extracellular of rat brain by microdialysis.

\*:  $p < 0.001$  (N = 3)



**Fig. 4.** The metabolic pathways of catecholamines.

る。しかし、今回のモノアミン検出システムでは、バナジウム長期投与群、非投与群ともに検出されず、群間に差はないものとみなした。以上のことから、HVAの遊離量低下はドパミンの供給量不足に起因していると推察した。移動相のメタノールの割合を変化させることによって、ドパミンも同システムで測定可能であることから、今後の検討課題の一つとして、線条体細胞外液中へのドパミン遊離量の測定が挙げられる。

## 文 献

- 1) NAKANISHI, Y., M. KAWAMURA, T. IDO, R. IWATA, T. ISHIZAKI and S. KIMURA (1991) Biomed. Res. Trace Elements **2**, 261.
- 2) 井戸達雄, 熊谷洋紀, 阿部一也, 木村修一, 中西由季子, 川村美笑子 (1990) 微量栄養素研究第7集 147.
- 3) 中西由季子, 川村美笑子, 井戸達雄, 木村修一 (1991) 微量栄養素研究第8集 99.
- 4) GEORGE, P. and W. CHARLS: The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates., ACADEMIC PRESS
- 5) CHE-HUI, K., Fumiaki H., Hiroshi Y., Atushi Y. and Hiroshi W. (1979) Life Sci. **24**, 911.
- 6) SHARMA, R.P., R.A.Jr., COULONBE and B. STRISCHART (1986) Biochem. Pharmacol. **35**, 461.