

論文審査の結果の要旨

氏名：渡邊 由梨子

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：側坐核の δ 受容体を介した dopamine 放出および基礎 acetylcholine 放出において GABA_B 受容体が果たす役割

審査委員：(主査) 教授 吉垣 純子
(副査) 教授 牧山 康秀
教授 三枝 禎
教授 小宮 正道

側坐核は、中脳辺縁系 dopamine 神経の主たる投射領域である。Opioid 受容体のひとつである δ 受容体には δ_1 , δ_2 の 2 種類の subtype が存在するが、側坐核に分布する δ_1 または δ_2 受容体の選択的活性化は、いずれも dopamine 放出を促進することが知られている。 δ 受容体は、側坐核では GABA 介在神経に発現しており、側坐核において GABA_B 受容体は dopamine 放出を抑制的に調節することから、 δ_1 または δ_2 受容体を介した側坐核の dopamine 放出の促進には GABA_B 受容体を介した抑制性神経伝達の低下の関与が想定される。したがって、側坐核の δ_1 または δ_2 受容体刺激による dopamine 放出の促進はいずれも GABA_B 受容体刺激で打ち消されることが考えられる。しかしこの仮説を支持する神経化学的な証拠はない。一方、側坐核において GABA_B 受容体は GABA_A 受容体と同様に acetylcholine 介在神経に分布している。側坐核では、acetylcholine 神経と dopamine 神経は密接な機能的相互作用を示す可能性があるが、側坐核の acetylcholine 放出に影響を与える GABA_B 受容体への刺激が、同部位の dopamine 放出へ及ぼす効果は不明である。

そこで本論文の第 1 章の研究では、 δ_1 および δ_2 受容体を介した側坐核の dopamine 放出に対する GABA_B 受容体 agonist の baclofen の効果について、第 2 章の研究では、baclofen が側坐核の acetylcholine および dopamine 放出に及ぼす効果について、いずれも無麻醉非拘束ラットを用いた *in vivo* 脳微小透析法により検討した。第 2 章では、比較のため GABA_A 受容体 agonist の muscimol の効果についても解析した。

側坐核の dopamine および acetylcholine 放出の測定のため、同部位に留置した脳微小透析プローブを介して回収した細胞外液中の dopamine および acetylcholine は電気化学検出器を組み合わせた高速液体クロマトグラフにより分離定量した。第 2 章の研究では、基礎 acetylcholine の検出のため灌流液に低濃度の physostigmine (50 nM) を添加した。薬物はいずれも灌流液中に溶解し、脳微小透析プローブを介した逆透析で側坐核に局所灌流投与した。Physostigmine を除く薬物の投与量は、灌流期間中に投与された薬物の総量 (mol) で示した。以下はその結果である。

第 1 章

基礎 dopamine 量に影響がない用量の baclofen (2.5, 5.0 nmol) は、 δ_1 受容体 agonist の DPDPE (5.0 nmol) が誘発した dopamine 放出の増大を抑制した。また baclofen (2.5, 5.0 nmol) は、 δ_2 受容体 agonist の deltorphin II (25.0 nmol) が誘発した dopamine 放出の促進も抑制した。この baclofen (5.0 nmol) による DPDPE (5.0 nmol) または deltorphin II (25.0 nmol) が誘発した dopamine 放出に対する抑制効果は、基礎 dopamine 放出に影響を及ぼさない用量の GABA_B 受容体 antagonist の 2-hydroxysaclofen (100.0 pmol) により打ち消された。

第 2 章

GABA_A 受容体 agonist の muscimol (3.0, 30.0 pmol) は、側坐核の細胞外 acetylcholine 放出を用量依存的に抑制した。また、GABA_B 受容体 agonist の baclofen (30.0, 300.0 pmol) も側坐核の細胞外 acetylcholine 放出を用量依存的に低下させた。基礎 acetylcholine 量に影響を及ぼさない用量の GABA_A 受容体 antagonist の bicuculline (60.0 pmol) は、muscimol (30.0 pmol) の誘発した基礎 acetylcholine 量の減少を打ち消した。基礎 acetylcholine 量に影響がない用量の GABA_B 受容体 antagonist の 2-hydroxysaclofen (12.0 nmol) は、baclofen (300.0 pmol) による基礎 acetylcholine 量の低下を打ち消した。一方、基礎 acetylcholine 量を減少させた

muscimol (30.0 pmol) および baclofen (300.0 pmol) は、基礎 dopamine 量には目立った影響を与えなかった。同様に、bicuculline (60.0 pmol) および 2-hydroxysaclofen (12.0 nmol) も、基礎 dopamine 量に影響を及ぼさなかった。

以上の第1章および第2章の結果から、 δ_1 または δ_2 受容体刺激による側坐核の dopamine 放出の増大は、いずれも同部位 GABA_B 受容体刺激により抑制されることが示された。また、側坐核の GABA 介在神経の細胞体または神経終末のいずれかあるいは両方に発現する δ_1 および δ_2 受容体の活性化は GABA 放出を減少させ、同部位の dopamine 神経終末の GABA_B 受容体を介した抑制的制御を低下させることで dopamine 放出を促進することが示唆された。さらに、側坐核において GABA_A と GABA_B 受容体はいずれも同部位の acetylcholine 神経活動の調節において抑制的な役割を果たすことが示された。また、側坐核の acetylcholine 放出を減少させる GABA_A または GABA_B 受容体刺激は、同部位の dopamine 放出には影響を与えないことが示された。

行動学実験から、側坐核の dopamine 神経活動の亢進は opioid に対する精神依存の発現に関与するほか、側坐核の acetylcholine 神経活動の抑制は記憶を含む認知機能を低下させると想定されている。本研究は、opioid を用いた疼痛制御の安全性の向上につながる GABA_B 受容体の機能に関する基礎的な知見を提供するものである。

よって本論文の著者は、博士（歯学）の学位を授与されるに値するものと認められる。

以 上

平成31年1月24日