

## 論文審査の結果の要旨

氏名：川島 央暉

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：無麻酔非拘束ラットの側坐核の神経ペプチド受容体を介した dopamine 放出機構の研究

審査委員：(主査) 教授 吉垣 純子

(副査) 教授 三枝 禎

教授 牧山 康秀

側坐核は中脳腹側被蓋野を起始核とした中脳辺縁系 dopamine 神経の主たる投射部位である。側坐核には睡眠・覚醒や食餌摂取などに関与する神経ペプチドの orexin-A または B を含有した orexin 神経が視床下部外側野から投射しており、これらの orexin 類が結合する orexin 受容体のサブタイプである  $OX_1$  および  $OX_2$  受容体も発現している。ラットを用いた行動学実験から側坐核の orexin 受容体は、同部位の dopamine 神経活動に依存した移所行動を促進することが示唆されている。しかしながら、側坐核の  $OX_1$  および  $OX_2$  受容体が同部位の dopamine 神経終末からの dopamine 放出の制御で果たす役割は不明であった。

側坐核には、endomorphin 類、 $\beta$ -endorphin、dynorphin などの神経ペプチドが結合する opioid 受容体も分布している。Opioid 受容体には  $\mu$ 、 $\delta$ 、 $\kappa$  受容体サブタイプがあり、これらを刺激するアゴニストには opioid 鎮痛薬の morphine がある。一方、世界アンチドーピング機構の使用禁止リストに含まれているタンパク同化ステロイドのひとつである nandrolone は、筋力の強化を要する競技スポーツの場だけでなく、骨格筋の発達と自らの外見の向上を追求する青少年の間での乱用が懸念される化学物質である。しかし、nandrolone の効果が顕著で、注意喚起を行うべき時期として成長期のうちの思春期から青年期のどの期間が特に重要かに関しては明らかでなかった。また、nandrolone はそれ自体で依存を形成することが示唆されているほか、morphine を含む opioid はタンパク同化ステロイドと特に頻繁に併用して乱用される化学物質であるとする疫学調査結果もある。乱用される薬物は中脳辺縁系 dopamine 神経の活動を促進するが、nandrolone の反復投与が側坐核の基礎的な dopamine 放出と、morphine が誘発する側坐核の dopamine 放出促進作用に及ぼす影響は明らかでなかった。

そこで本論文では Sprague-Dawley 系雄性ラットを用い、第 1 章では、orexin 受容体リガンドの側坐核への局所投与が同部位の細胞外 dopamine 量に及ぼす影響を指標とし、側坐核の基礎的な dopamine 放出の制御において  $OX_1$  および  $OX_2$  受容体が果たす役割について *in vivo* 脳微小透析法により検討した。第 2 章でははじめに、成長期のうち思春期に相当する 6 から 10 週齢と、青年期に相当する 10 から 14 週齢において、筋力の指標のひとつである握力に対する nandrolone の反復投与の効果を体重に対する効果と比較して系統的に検討した。次に、nandrolone の反復投与が側坐核の基礎的な dopamine 放出と morphine の投与が側坐核の dopamine 放出に及ぼす影響について *in vivo* 脳微小透析法により検討を加えた。

第 1 章では、orexin 受容体リガンドの側坐核への局所投与が、同部位の dopamine 量に及ぼす影響を観察した。その結果、 $OX_1$  および  $OX_2$  受容体の非選択的なアゴニストである orexin-A、 $OX_2$  受容体の選択的なアゴニストの orexin-B の投与は、側坐核の dopamine 量に目立った変化を起さなかったが、 $OX_1$  および  $OX_2$  受容体の非選択的なアンタゴニストの MK-4305 の投与では dopamine 放出を促進させた。微小透析膜を介した tetrodotoxin の側坐核の灌流投与または orexin-A の併用投与は、MK-4305 が誘発した側坐核の dopamine 放出を強く抑制した。 $OX_2$  選択的なアンタゴニストの EMPA の投与は dopamine 放出を増加させたが、この EMPA が誘発した側坐核の dopamine 放出は同部位への tetrodotoxin の灌流投与により消失した。 $OX_1$  受容体の選択的なアンタゴニストの SB-334867 の投与では dopamine 放出に変化が認められなかった。Orexin-B の併

用投与は、EMPA または MK-4305 が誘発した dopamine 放出の増大を抑制した。一方、MK-4305 の腹腔投与では、側坐核の dopamine 放出に目立った変化は見られなかった。これらの実験から、側坐核においては OX<sub>1</sub> ではなく OX<sub>2</sub> 受容体が基礎的な dopamine 放出を抑制的に制御していることと、無麻酔非拘束ラットの側坐核の OX<sub>2</sub> 受容体の遮断は同部位の dopamine 放出を促進することを示す神経薬理的な証拠が *in vivo* の条件下で提供できた。

第2章では、はじめに6週齢および10週齢のラットに nandrolone の反復投与を4週間行い、この投与が成長に伴う握力と体重の増加に及ぼす影響を観察した。Nandrolone または溶媒の sesame oil は、1日1回1週間のうち6日の連続投与を3週に亘り行った後、1日1回4日連続して投与した。その結果、nandrolone は10週齢ではなく6週齢のラットで握力の増大を促進したが、いずれの週齢のラットでも体重の増加には殆ど影響を及ぼさなかった。そこで6週齢のラットに4週間の nandrolone を投与したのちに *in vivo* 脳微小透析実験を行ったところ、側坐核の基礎 dopamine 放出に変化はなかったが morphine の皮下投与が誘発した dopamine 放出の促進作用は低下した。以上のことから、nandrolone の反復投与が体重増加に影響を与えずに筋力の増加を促進する臨界期のひとつは思春期である証拠を *in vivo* の実験条件下で示すことができた。この思春期の時期の nandrolone の反復投与は、中脳辺縁系 dopamine 神経活動を活性化しないものの、nandrolone と最も併用して乱用される薬物である opioid によるこの神経活動の賦活化を低下させることが示唆された。

以上の第1章および第2章の研究から、側坐核の OX<sub>2</sub> 受容体は同部位の dopamine 放出を抑制的に制御することが示された。また、opioid 受容体刺激を介した側坐核の dopamine 放出の促進は、思春期に相当する時期に nandrolone を反復投与すると減弱することが示された。本研究は、睡眠・覚醒や食餌摂取などに関与することが知られている orexin 類の orexin 受容体サブタイプを介した中脳辺縁系 dopamine 神経活動の抑制機構と、麻薬性鎮痛薬の主要な作用部位である opioid 受容体の刺激による中脳辺縁系 dopamine 神経活動の促進に対するタンパク同化ステロイドの nandrolone の抑制作用の特徴を、いずれも *in vivo* の実験条件下で明らかにした点で口腔科学の発展に大きく寄与するものである。

よって本論文は、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

5 年 2月 22日