



Title	中枢ドーパミン受容体の多様性とその機能的役割
Author(s)	藤田, 典久
Citation	大阪大学, 1982, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/33278">https://hdl.handle.net/11094/33278</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"&gt;https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> >大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">&lt;/a&gt;</a> をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名・(本籍)	藤 田 典 久
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	第 5 6 1 3 号
学位授与の日付	昭 和 57 年 3 月 25 日
学位授与の要件	医学研究科 生理系専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学 位 論 文 題 目	中枢ドーパミン受容体の多様性とその機能的役割
論文審査委員	(主査) 教 授 吉 田 博 (副査) 教 授 岩 間 吉 也 教 授 和 田 博

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 〔目 的〕

中枢及び末梢神経系においてドーパミン(DA)が神経伝達物質の一つとされ、パーキンソン病や分裂病などは中枢 DA ニューロンの機能異常に起因することが示唆されてきた。更に最近では $^3\text{H}$ ラベルしたリガンドによる DA 受容体(DA-R)の標識法が確立され、中枢神経系には何種類かの DA-R が存在することが報告されている。しかしながら、これらの受容体の個々の性質や機能的役割については殆んど解明されていない。

本研究では DA アゴニストである $^3\text{H}$ -アポモルヒネ(APO)のラット脳線条体膜への結合実験を行ない、これによって識別される種々の DA-R の性質や存在部位を明らかにするとともに、個々の受容体の機能的役割を動物行動との関連において検討を加え、数種の抗精神薬と作用機構について考察した。

### 〔方 法〕

SD 系ラット ( 280—300 g ) をネンブタール (40mg/kg) 麻酔下に脳定位固定装置に固定し、Cushman らの脳図譜に従い 6 hydroxydopamine( 6-OHDA;  $8\mu\text{g}/2\mu\text{l}$  ) 或いは kainic acid(K. A.;  $2.5\mu\text{g}/\mu\text{l}$  ) を  $0.5\mu\text{l}/\text{min}$  の速度で線条体 ( A 22 L 28 V 4.8 ) に注入した。手術の有効性は 1 ～ 3 週後にみられる APO による回転運動で確認した。また常同行動については Costall らの基準に従って評価した。

線条体 DA-R の標識には $^3\text{H}$ -APO の特異的結合で測定した。 $10^{-6}\text{M}$  の ( + ) 体ブタクラモール存在下での測定値を非特異的結合とし、 $10^{-6}\text{M}$  の ( - ) 体ブタクラモール存在下での総結合量との差を

もって立体特異的結合とした。反応液は25mM トリス塩酸 (pH 7.4), 5 mM Na<sub>2</sub>EDTA, 0.02 % アスコルビン酸の組成とし全量 2.0 ml で行った。反応は37°C, 5 分間行ない直ちにグラスフィルターで吸引濾過することにより停止させた。

DA 感受性アデニレートサイクレース (DA-A Case) の測定は<sup>3</sup>H-ATP を基質に Keblarian らの方法に従って反応させ、生成した<sup>3</sup>H-cAMP を Salomon らの方法に準じて分離測定した。

#### 〔結 果〕

##### (1) <sup>3</sup>H-APO の脳線条体膜への結合の性質

線条体膜への<sup>3</sup>H-APO の特异的結合 (以下単に結合と略) は 2 相性の飽和曲線を示し、その Scatchard plot, Hill plot の解析から K<sub>d</sub> 値 1.7 nM, Hill 係数 1 を示す結合部位と、Hill 係数が 2 で cooperativity を有する結合部位の 2 成分からなることが判った。後者は全体の 30% 量に相当した。<sup>3</sup>H-APO 結合に対してアゴニストとアンタゴニストでは異なる阻害様式を示した。即ちアゴニストは Hill 係数 0.9 の 1 相性の阻害を示すがハロペリドール (HPL) スピロペリドール (SPL) は阻害 70% の付近に変極点を有する 2 相性の阻害を示し、Hill 係数は 0.9 と 0.4 の値を示した。またスルピリド (SLP) やメトクロプラミドは Hill 係数が 0.9 で 1 相性の阻害を示すが、最大 70% 阻害するにとどまり HPL との併用実験から SLP による阻害部位と HPL が Hill 係数 0.9 により阻害する部位とは同部位であることが判った。また大過剰の SLP 存在下に<sup>3</sup>H-APO 結合を測定するとシグモイド状の曲線が得られ、結合量は SLP 非存在下のものに比べ約 30% 量であった。従って SLP によって阻害されない部位は正の協同性を示すであろうと考えられる。

##### (2) シナプス前及びシナプス後 DA-R の性質

線条体に 6-OHDA 或いは K. A. を一側性に微量投与すると、術後 1 ~ 3 週間後には夫々選択的にシナプス前及び後部位が破壊され、その結果 DA アゴニストによって夫々逆向きの回転運動が観察されるようになる。6-OHDA の場合はシナプス前部位の破壊 (以下単に除神経と略) に伴うシナプス後部位の過感受性に依る現象と考えられる。これらの際に、<sup>3</sup>H-APO の結合を測定すると K. A. 処置により cooperativity を有する結合部位は消失し、Scatchard plot は直線を示し、その K<sub>d</sub> 値は 3.7 nM であった。一方 6-OH-DA 処置では立ち上がりが僅かに急になった 2 相性の結合曲線が得られ cooperative な結合部位に変動は認められなかった。また SLP による阻害は K. A. 処置により 1 相性に 100 % の阻害が認められるようになった。以上のことから、シナプス前部位には non cooperative な受容体が存在することが確認され、シナプス後部位には、SLP では阻害されない、正の協同性を有する受容体及び SLP により阻害される、non cooperative な性質を示す受容体が存在することが明らかとなった。6-OHDA 処置後にみられる回転運動は除神経後の過感受性に依ると考えられるが、この時、シナプス後部位の SLP 感受性 non cooperative な受容体に約 80% の量的増加が認められたことから、この結合部位が回転運動に関与すると考えられる。

##### (3) DA-R の多様性と動物行動との関連

DA のアゴニスト-アンタゴニストであるリスリド (LHM) は HPL 同様 2 相性に<sup>3</sup>H-APO 結合を阻害し、DA-A Case に対しても拮抗作用を示した。しかしながら、6-OHDA 或いは K. A. で処

置したラットに対し、LHM50 $\mu$ g/kgの投与はAPOにより惹起される回転と同様な向きの回転運動をひき起こし、夫々の回転はSLP 50mg/kgの前処置により完全に抑制された。また比較的高濃度のAPOはラットに常同行動の発現をもたらすが、この行動はSLPの前処置によっては抑制されず、比較的高濃度のLHMの前処置により用量依存性に抑制された。

#### 〔総括〕

<sup>3</sup>H-APO結合実験から明らかなように、線条体のシナプス後部位にはSLPにより阻害されるDA-RとSLPでは阻害されないDA-Rが存在し、後者は正の協同性を有する。これらの2種のDA-Rは異なる機能を有し、前者は回転運動ひいてはlocomotor activityの発現に重要な役割を担い、LHMはAPO同様アゴニストとして作用する。この受容体は除神経により過感受性をひき起こし易い性質のものである。一方SLPによっては阻害されないDA-Rは常同行動との関連が示唆され、LHMはHPLなどと同様にDAアンタゴニストとして作用する。除神経によっても感受性には変動のきたし難い性質をもつ。また、シナプス前部位のDA-Rは後部位のDA-Rに比べ親和性は低く、協同性を示さない。

### 論文の審査結果の要旨

ラット脳線条体膜への<sup>3</sup>H-アポモルヒネの特異的結合を指標に、線条体ドーパミン受容体(DA-R)の性質を調べ種々の行動との関連について検討した。

シナプス後部位にはスルピリド(SLP)により阻害されるDA-RとSLPでは阻害されないDA-Rが存在し、後者は正の協同性を有する。前者は回転運動ひいては探索行動の発現に関与し、麦角アルカロイド誘導体リスリド(LHM)はアゴニストとして作用する。一方SLP非感受性DA-Rは常同行動との関連が示唆されLHMはアンタゴニスト様の効果を示す。またシナプス前部位のDA-Rは後部位のものに比べ親和性は低く協同性は示さないことが示唆された。

本研究は、中枢DA神経系に関する薬理学的知見を深めることに大きく寄与しており学位論文としての価値をもつと判断される。