



Title	神経化学伝達物質受容体のマウス脳 <i>in vivo</i> リガンド結合に関する薬理学的研究
Author(s)	細井, 理恵
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/44522
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名	細井理恵
博士の専攻分野の名称	博士(薬学)
学位記番号	第17379号
学位授与年月日	平成14年12月26日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	神経化学伝達物質受容体のマウス脳in vivoリガンド結合に関する薬理学的研究
論文審査委員	(主査) 教授 松田敏夫
	(副査) 教授 八木清仁 教授 前田正知 教授 馬場明道

論文内容の要旨

PET (positron emission tomography) や SPECT (single photon emission computed tomography) は、生きているヒトや動物における神経伝達物質受容体や細胞の代謝活性等に関する分子レベルの情報を画像という客観的な指標として定量評価できる唯一の方法である。しかしながら、PET や SPECT による測定には、特殊な設備が必要であり、基礎的、臨床的な知見の蓄積が非常に少ないのが現状である。現在までにパーキンソン病、統合失調症などに関する臨床的研究がいくつかの施設で展開されているが、その所見は必ずしも一致していない。その原因として疾患そのものの多様性も考えられるが、in vivo で得られる結果を従来通りの in vitro で用いるパラメータを中心にして解析していることにも問題があると考えられる。PET 等による in vivo の受容体結合は、in vitro の時のような平衡状態に達することではなく、常に非平衡下での反応である。そのためトレーサ動態の解析には薬物動態学で用いられるようなコンパートメント解析が必要となる。さらに in vivo における受容体結合は受容体の最大結合数 (B_{max}) に加えて、2分子結合速度定数 (k_{on}) や複合体からの解離速度定数 (k_{off}) といった速度的パラメータが関与していると考えられる。しかし、これまでにこれらパラメータが実際に in vivo 受容体結合にどの程度関与しているかについてはほとんど検討されていない。本研究においては in vivo 受容体結合における速度的パラメータ (k_{on} , k_{off}) の意義を検討するため、ムスカリニン性アセチルコリン (mACh) 受容体におけるパラメータの推定を行った。さらに、薬物がリガンドの速度的パラメータに影響を与えるかどうか、タイプ4ホスホジエステラーゼの阻害薬であるロリプラムと、アルツハイマー病治療薬として開発中の M_1 タイプ mACh 受容体選択的部分作用薬のサブコメリング in vivo 受容体結合に及ぼす影響について検討した。

mACh 受容体の in vivo 受容体結合においては $^3H\text{-NMPB}$ および $^3H\text{-QNB}$ のいずれを標識リガンドとして用いた場合でも、トレーサ投与 60 分後の結合は、 k_{on} と B_{max} の積を反映した値となる。本研究において $^3H\text{-NMPB}$ のマウス脳 in vivo 受容体結合は in vitro 受容体結合の B_{max} を反映した分布を示したが、 $^3H\text{-QNB}$ の in vivo 受容体結合は B_{max} の分布とは著しく異なり、in vivo 固有の因子である k_{on} の影響を強く受けすることが明らかとなった。さらに $^3H\text{-QNB}$ の大脳皮質の in vivo 結合において k_{on} はリガンド濃度依存性を示し、リガンド濃度が低い時には結合が小さく観察されることが判明した。従って $^3H\text{-QNB}$ の受容体結合での in vivo 受容体結合と in vitro 受容体結合の違いは in vivo において k_{on} が著明に低下していることに起因していると考えられる。 k_{on} を低下させる原因是明らかではないが、生体、特に脳においてはリガンドと受容体とのミクロの反応の場が不均一であることから、受容体近傍に

おける実効リガンド濃度が組織内の遊離リガンド濃度の平均値とは大きく異なっているためではないかと推測される。また、³H-NMPB および ³H-QNB と mACh 受容体のアンタゴニストであるスコポラミンとの競合阻害実験の結果、大脳皮質では ³H-QNB の in vivo 受容体結合は ³H-NMPB と比較し阻害を受けにくいことが判明した。その原因は標識リガンドがトレーサ濃度の場合、³H-QNB の k_{on} が低下しているためであると推察される。このような標識リガンドにより観測結果が異なる現象はドパミン D₂ 受容体においても観察され、脳内神経化学物質受容体に共通して見られる一般的な現象と考えられる。各種神経化学伝達物質受容体へ直接結合し作用する薬物の in vivo 受容体占有率を PET や SPECT を用いて測定することは、薬物効果判定を行うために有効な方法論であるが、用いる標識リガンドの in vivo での結合特性を十分考慮することが重要であることが示された。

In vivo におけるリガンド・受容体結合を変化させる要因として局所脳血流量の変化、内在性神経伝達物質の放出量の増減、受容体のインターナリゼーションや薬物による受容体の占有により生じる B_{max} の変化、リガンドの速度因子 (k_{on} 、 k_{off}) の変化等が考えられる。本研究においては、ロリプラムによる細胞内 cAMP 量の増加に伴って ³H-SCH 23390 (D₁)、³H-NMSP (D₂)、³H-NMPB (mACh) の結合が著明に低下した。この低下は、 B_{max} がほぼ変化しなかったことや、³H-NMPB の in vitro 受容体結合では変化を生じなかったことから、 k_{on} の低下のためであると考えられる。このように本研究では cAMP が in vivo 受容体結合の k_{on} に影響を与える一つの生体内因子であることを示した。

さらにサブコメリンによるマウス脳内における mACh 受容体占有率を検討した。その結果、サブコメリンはげつ歯類と靈長類とで異なる体内動態もしくは受容体レベルでの結合動態を示すことが示唆された。またサブコメリンはドパミン D₂ 受容体への標識リガンドの結合速度を低下させることができた。本成績はサブコメリンが線条体におけるドパミン神経系を介する情報伝達を制御している可能性を示唆する。

以上、in vivo 受容体結合は非平衡下での反応であるがゆえに観察される特異結合に速度因子 (k_{on} 、 k_{off}) が大きく関与していることが明らかとなった。また、in vivo の系においてのみ顕著に観測される現象には速度因子 (k_{on} 、 k_{off}) の変化が寄与しているものと推定されるが、今後これらの速度因子の変化の生理的意義を明らかにすることが重要な課題であると考えられる。

論文審査の結果の要旨

In vivo 受容体結合における速度的パラメーター (k_{on} 、 k_{off}) の意義について、ムスカリノ性アセチルコリン (mACh) 受容体、ドパミン (DA) 受容体を取り上げ検討し、以下の結論を得た。

1. mACh、DA 受容体における in vivo 受容体結合は受容体数 (B_{max}) 以外にも標識リガンドの速度因子 (k_{on}) の影響を強く受ける。
2. In vivo 受容体結合に及ぼす速度因子 (k_{on}) の影響は、用いる標識リガンドにより、また対象とする部位により異なる。
3. 速度因子 (k_{on}) は cAMP により低下し、その結果として、DA-D₁、DA-D₂、mACh の in vivo 受容体結合は低下する。
4. アルツハイマー病治療薬として開発中のサブコメリンは、in vivo の mACh 受容体占有率が 50%以上の時その薬効を発現すると推定され、また、その用量での DA-D₂ 受容体における in vivo 受容体結合において標識リガンドの速度因子 (k_{on} 、 k_{off}) を変化させる。

以上のように、本研究は in vivo 受容体結合における速度因子の重要性を明らかにしたもので、博士（薬学）の学位を授与するに相応しいものと考える。