

氏名	かとう まさき 加藤 将貴
学位の種類	博士(薬科学)
学位記番号	甲博薬科第3号
学位授与の日付	令和5年3月10日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	中枢ニコチン性アセチルコリン受容体を介する 振戦発現に関する薬理研究
論文審査委員	(主査) 教授 福永 理己郎 (副査) 教授 大野 行弘 (副査) 教授 藤 森 功

論文内容の要旨

中枢アセチルコリン (ACh) 神経は前脳基底部や大脳基底核の線条体に多く分布し、認知機能、精神機能ならびに運動機能の調節において非常に重要な役割を果たしている。これら ACh 神経系の薬理作用は、ムスカリン性アセチルコリン (mACh) 受容体やニコチン性アセチルコリン (nACh) 受容体を仲介して発現する。所属研究室では nACh 受容体を介する振戦やけいれん発作などの運動興奮症状の発現メカニズムについて研究を行っており、これまでに、ニコチンが $\alpha 7$ nACh 受容体を介して延髄の下オリーブ核神経を興奮させることで動作時振戦を誘発することを見出してきた。

振戦は、身体の一部が律動的にふるえる不随意性の運動障害であり、パーキンソン病や本態性振戦でよく見られる症状である。パーキンソン病は、黒質-線条体ドパミン神経の変性・脱落に伴う錐体外路系運動障害であり、主に静止時振戦が発症する。一方、本態性振戦では動作時振戦や姿勢時振戦が現れることが多く、その発症メカニズムには下オリーブ-小脳系神経路の機能異常が関与すると考えられている。従って、nACh 受容体を介して発現する動作時振戦は、本態性振戦と共通の

メカニズムで発症すると考えられるが、これら振戦の薬理的な特性、特に薬物に対する反応の類似性などは未だ検討が不十分である。また、ニコチンはドパミン神経の前シナプス性 nACh 受容体を刺激することで、シナプスにおけるドパミン遊離を促進しドパミン神経系を賦活化することが知られているが、ニコチン誘発振戦の発現におけるドパミン神経系の関与については未だ明らかになっていない。

そこで本研究では、中枢 nACh 受容体を介する振戦発現に関する薬理研究として、ニコチン誘発振戦の中枢神経作用薬に対する反応性を評価した。加えて、ニコチン誘発振戦の発現調節におけるドパミン神経系の役割とメカニズムを解析した。さらに、コリンエステラーゼ阻害薬による ACh 神経の賦活化によって惹起される振戦の発現メカニズムについても検討した。

はじめに、ニコチンによって誘発される動作時振戦の薬理的な特性を明らかにするため、ニコチン誘発振戦に対する各種振戦治療薬ならびに各種抗てんかん薬の作用を評価した。その結果、ニコチン誘発振戦は本態性振戦治療薬（プロプラノロール、ジアゼパム、フェノバルビタール）により特異的に抑制されたが、パーキンソン病治療薬（L-DOPA、トリヘキシフェニジル）では抑制されなかった。従って、ニコチン誘発振戦の薬物反応性がヒト本態性振戦と類似していることが明らかとなり、ニコチン誘発振戦が本態性振戦の新規動物モデルとして有用であることが示唆された。さらに、第 1 世代および第 2 世代抗てんかん薬のニコチン誘発振戦に対する作用を評価した結果、電位依存性 Na⁺チャンネルや電位依存性 T 型 Ca²⁺チャンネルの阻害作用を持つ薬物が、ニコチン誘発振戦を有意に改善することが明らかとなった。

次に、ドパミン神経系によるニコチン誘発振戦発現の調節的役割やメカニズムを明らかにするため、ニコチンが脳内ドパミン代謝に及ぼす影響を評価した。その結果、振戦発現用量のニコチンは下オリーブ核を含む橋・延髄のドパミン神経系を賦活化させることが明らかとなり、中枢ドパミン神経の活性化が振戦発現の調節に関与することが推察された。また、各種ドパミン受容体作動薬および拮抗薬のニコチン誘発振戦に対する作用を解析したところ、ドパミン D_{1/5} 受容体の活性化が振戦発現を抑制的に、D₃ 受容体の活性化が振戦発現を促進的に調節することが明らかとなった一方で、D₂ 受容体および D₄ 受容体はニコチン誘発振戦の発現調節にほとんど影響しないことが確認された。さらに、D₃ 受容体および D_{1/5} 受容体拮抗薬の脳内局所投与を行った結果、D₃ 受容体による促進的制御には小脳が、D_{1/5} 受容体による抑制的制御には下オリーブ核が関与していることが示唆された。一方、線条体の D₃

受容体および $D_{1/5}$ 受容体はいずれも、ニコチン誘発振戦の調節には関与していないことが示された。

最後に、コリンエステラーゼ阻害薬による ACh 神経賦活化が惹起する振戦発現のメカニズムについても検討した。コリンエステラーゼ阻害薬であるパラオキソンによって誘発される振戦行動を評価した結果、パラオキソンによって用量依存的に動作時振戦が誘発され、さらに、脳内神経興奮部位を探索したところ、大脳皮質、海馬、淡蒼球、内側手綱核および下オリーブ核における過剰な神経興奮が認められた。また、パラオキソンによる振戦発現および下オリーブ核の神経興奮は nACh 受容体拮抗薬によって共に抑制されたが、mACh 受容体拮抗薬はほとんど影響しなかったこと、さらに、下オリーブ核の電気破壊によってパラオキソン誘発振戦が顕著に抑制されたことから、コリンエステラーゼ阻害薬によって ACh 神経を賦活化した際に発現する振戦は、ニコチン誘発振戦と同様に、nACh 受容体を介して下オリーブ核神経を過剰興奮させることで誘発されることが確認された。

本研究結果から、中枢 ACh 神経系の賦活化によって惹起される動作時振戦は、nACh 受容体を介した下オリーブ核神経の過剰興奮を通して誘発されることが明らかとなり、nACh 受容体を介する振戦がヒト本態性振戦の新たな動物モデルになり得ることが示された。さらに、ヒト本態性振戦の新規治療薬候補として、ドパミン D_3 受容体拮抗薬、 $D_{1/5}$ 受容体作動薬、電位依存性 Na^+ チャンネルおよび電位依存性 T 型 Ca^{2+} チャンネル阻害薬が有望であることが示唆された。特に、小脳 D_3 受容体の振戦制御に関する知見は世界でも初の報告であり、今後、錐体外路系運動調節における小脳 D_3 受容体の役割が注目される。

論文審査の結果の要旨

中枢アセチルコリン (ACh) 神経は前脳基底部や大脳基底核の線条体に多く分布し、認知機能、精神機能ならびに運動機能の調節において非常に重要な役割を果たしている。これら ACh 神経系の薬理作用は、ムスカリン性アセチルコリン (mACh) 受容体やニコチン性アセチルコリン (nACh) 受容体を仲介して発現する。申請者の研究室では nACh 受容体を介する振戦やけいれん発作などの運動興奮症状の発現メカニズムについて研究を行っており、これまでに、ニコチンが $\alpha 7$ nACh 受容体を介して延髄の下オリーブ核神経を興奮させることで動作時振戦を誘発することを見出してきた。

振戦は、身体の一部が律動的にふるえる不随意性の運動障害であり、パーキンソン病や本態性振戦でよく見られる症状である。パーキンソン病は、黒質-線条体ドパミン神経の変性・脱落に伴う錐体外路系運動障害であり、主に静止時振戦が発症する。一方、本態性振戦では動作時振戦や姿勢時振戦が現れることが多く、その発症メカニズムには下オリーブ-小脳系神経路の機能異常が関与すると考えられている。従って、nACh 受容体を介して発現する動作時振戦は、本態性振戦と共通のメカニズムで発症すると考えられるが、これら振戦の薬理的な特性、特に薬物に対する反応の類似性などは未だ検討が不十分である。また、ニコチンはドパミン神経の前シナプス性 nACh 受容体を刺激することで、シナプスにおけるドパミン遊離を促進しドパミン神経系を賦活化することが知られているが、ニコチン誘発振戦の発現におけるドパミン神経系の関与については未だ明らかになっていない。

そこで申請者は、中枢 nACh 受容体を介する振戦発現に関する薬理研究として、ニコチン誘発振戦の中枢神経作用薬に対する反応性の評価を試みると共に、ニコチン誘発振戦の発現調節におけるドパミン神経系の役割とメカニズムを解析した。さらに、コリンエステラーゼ阻害薬による ACh 神経の賦活化によって惹起される振戦の発現メカニズムについても検討を試みた。

申請者はまず、ニコチンによって誘発される動作時振戦の薬理的な特性を明らかにすることを目的に、ニコチン誘発振戦に対する各種振戦治療薬ならびに各種抗てんかん薬の作用を評価し、ニコチン誘発振戦は本態性振戦治療薬（プロプラノロール、ジアゼパム、フェノバルビタール）により特異的に抑制されたが、パーキンソン病治療薬（L-DOPA、トリヘキシフェニジル）では抑制されず、ニコチン誘発振戦の薬物反応性がヒト本態性振戦と類似していることを示した。これにより、ニコチン誘発振戦が

本態性振戦の新規動物モデルとして有用であることが示唆された。

さらに申請者は第1世代および第2世代抗てんかん薬のニコチン誘発振戦に対する作用を評価し、電位依存性 Na⁺チャンネルや電位依存性 T 型 Ca²⁺チャンネルの阻害作用を持つ薬物が、ニコチン誘発振戦を有意に改善することを示した。

申請者は次に、ドパミン神経系によるニコチン誘発振戦発現の調節的役割やメカニズムを明らかにすることを目的に、ニコチンが脳内ドパミン代謝に及ぼす影響を評価した。その結果、振戦発現用量のニコチンは下オリーブ核を含む橋・延髄のドパミン神経系を賦活化させることが明らかとなり、中枢ドパミン神経の活性化が振戦発現の調節に関与することが推察された。また、各種ドパミン受容体作動薬および拮抗薬のニコチン誘発振戦に対する作用を解析し、ドパミン D_{1/5}受容体の活性化が振戦発現を抑制的に、D₃受容体の活性化が振戦発現を促進的に調節することを示すと共に、D₂受容体および D₄受容体はニコチン誘発振戦の発現調節にほとんど影響しないことを確認した。さらに、D₃受容体および D_{1/5}受容体拮抗薬の脳内局所投与を行った結果、D₃受容体による促進的制御には小脳が、D_{1/5}受容体による抑制的制御には下オリーブ核が関与していることが示唆された。一方、線条体の D₃受容体および D_{1/5}受容体はいずれも、ニコチン誘発振戦の調節には関与していないことが示された。

申請者は最後に、コリンエステラーゼ阻害薬による ACh 神経賦活化が惹起する振戦発現のメカニズムについて検討した。コリンエステラーゼ阻害薬であるパラオキソンによって誘発される振戦行動を評価し、パラオキソンによって用量依存的に動作時振戦が誘発されることを示すと共に、脳内神経興奮部位の探索によって、大脳皮質、海馬、淡蒼球、内側手綱核および下オリーブ核において過剰な神経興奮が生じることを見いだした。また、パラオキソンによる振戦発現および下オリーブ核の神経興奮は nACh 受容体拮抗薬によって共に抑制されるが、mACh 受容体拮抗薬はほとんど影響しないこと、さらに、下オリーブ核の電気破壊によってパラオキソン誘発振戦が顕著に抑制されることから、コリンエステラーゼ阻害薬によって ACh 神経を賦活化した際に発現する振戦は、ニコチン誘発振戦と同様に、nACh 受容体を介して下オリーブ核神経を過剰興奮させることで誘発されることを明らかにした。

申請者は本研究によって、中枢 ACh 神経系の賦活化によって惹起される動作時振戦が、nACh 受容体を介した下オリーブ核神経の過剰興奮を通して誘発されることを明らかにし、nACh 受容体を介する振戦がヒト本態性振戦の新たな動物モデルになり得ることを示した。さらに、ヒト本態性振戦の新規治療薬候補として、ドパミン D₃受容

体拮抗薬、D_{1/5}受容体作動薬、電位依存性 Na⁺チャネルおよび電位依存性 T 型 Ca²⁺チャネル阻害薬が有望であることを示唆する結果を得た。特に、小脳 D₃受容体の振戦制御に関する結果は世界でも初の報告であり、今後の錐体外路系運動調節の研究において小脳 D₃受容体が担う役割への注目を促す重要な発見である。

以上により、上記の論文は、博士(薬科学)論文として適当と判断する。