

(第3号様式)

学位論文要旨

氏名 西川裕喜

論文名 ドパミンはミクログリアに対する抗炎症作用を示し、
ドパミン D1 受容体アゴニストはラットせん妄モデルの脳内炎症を
改善する

学位論文要旨

【目的】

モノアミン性神経伝達物質であるドパミンはせん妄をはじめ多くの中枢神経疾患との関連が認められているが、ドパミンがミクログリアに及ぼす病態生理学的な影響に関する理解はほとんど明らかにされていない。ミクログリアは、起炎症性サイトカインを分泌することで脳内炎症を引き起こし、せん妄という病態を作り出すと考えられている。今回、我々はせん妄モデルラット脳内でドパミンが上昇することを認め、その際、炎症反応が抑制されることを観察したことからドパミンとミクログリアの関係を研究することにした。

【方法】

この動物実験は、愛媛大学医学部の動物実験の倫理委員会によって承認された（承認番号：05-U-42-2）。

大腸菌由来リポポリサッカライド (LPS) を腹腔内投与することでせん妄モデルラットを作成し、対照群には生理食塩水を投与した。実験で使用した薬剤は、ドパミンの前駆体である L-DOPA とドパミン受容体拮抗薬であるクロザピン (CLZ)、SCH-23390 (SCH)、ドパミン受容体のアゴニストである SKF-81297 (SKF) である。実験手法としては、定量的 RT-PCR (qPCR)、高速液体クロマトグラフ (HPLC)、細胞培養、免疫組織化学、酵素結合免疫吸着アッセイ (ELISA)、フローサイトメトリー、脳波測定である。

【結果】

ミクログリア初代培養細胞のドパミン受容体について qPCR で調べたところ、ドパミン受容体 D1 (D1R) と D4R の発現が多いことが分かった。D1R が機能しているかどうか調べるために細胞内 cAMP 濃度をホスホジエステラーゼ 4 阻害薬下に測定したところ、SKF 負荷においては上昇を認めたが、ドパミン (DA) 負荷では大きな変化を認めなかった。一方で、両薬剤はインターロイキン 1β

氏名 西川裕喜

(IL-1 β)や腫瘍壊死因子 α (TNF α)といった起炎症性サイトカインの発現を抑制した。次に、前頭葉から分離したミクログリアを調べたところ、D4Rが最も高く発現し、D1RとD2Rも発現していることが分かった。また、免疫組織化学においてもミクログリア上にD1Rタンパク質の発現を確認できた。

LPS投与後の脳内神経伝達物質濃度をHPLCで測定した。DA濃度は経時的な上昇を認めた。LPS投与ラットの脳波を測定したところ、睡眠覚醒リズムの乱れが確認された。

脳内炎症を調べるために、LPS投与後の前頭葉から分取したミクログリアの起炎症性サイトカインmRNA発現を測定したところ高い値を示し、このことからミクログリアが炎症の主座であることが分かった。また、前頭葉全体でのサイトカインも経時的に上昇を認めたが、LPS投与21時間の翌朝においてTNF α は抑制されていることが分かった。またD1RアンタゴニストであるSCHを投与するとTNF α の上昇を認めた。

さらに、DAの抗炎症作用を確認するために、LPS投与ラットにL-DOPAを投与した。L-DOPA投与による脳内DA濃度やNA濃度の上昇を認め、起炎症性サイトカインの発現が抑制された。また、L-DOPAにD4Rアンタゴニストであるクロザピンを同時投与すると抗炎症効果が増強した。また、SKF投与も抗炎症作用を示し、LPS投与により低下していたラットの運動量が増加した。

【考察】

ミクログリアのDR発現については様々な見解があるが、今回の我々の研究では培養細胞にはDR1とDR4が発現し、脳実質のミクログリアにはDR2も発現していることが分かった。D1RアゴニストであるSKFはアデニル酸シクラーゼを介して細胞内cAMP濃度を高めたが、DAではcAMP濃度の変化を認めず、これはおそらく共発現しているD4Rがアデニル酸シクラーゼ活性を抑えるからと考えられた。

本研究では、in vivoでのDAの作用を解析するためにLPS投与によるせん妄モデルを採用した。敗血症は、脳内での起炎症性サイトカインの発現上昇とともに脳機能の低下を起し、概日リズムの乱れが生じるが、このモデルにおいても脳波測定の結果から同様の症状が見られた。

LPS誘発せん妄モデルラットに対するL-DOPA投与、L-DOPAとD4R阻害剤であるCLZの併用投与、D1R作動薬であるSKF単独投与はいずれも脳内炎症を抑制した一方、D1R阻害剤であるSCHを投与では脳内炎症が増強した結果などから、DAには抗炎症作用があり、その作用は主にはD1Rを介して発揮される可能性が示唆された。L-DOPAあるいはD1R作動薬の投与は、せん妄に対する新たな治療薬になるものと考えられた。

【結論】

ミクログリアには、D1RとD4RおよびD2Rが発現しており、DAのミクログリア起炎症性抑制作用は主にD1Rを介して発揮される。また、せん妄患者に対して、脳内炎症を抑制するという目的で、L-DOPAを含むパーキンソン病治療薬投与が有効である可能性が示された。

キーワード (3~5)	delirium microglia neuroinflammation dopamine
-------------	--