

学位論文審査結果の要旨

氏名	西川 裕喜
審査委員	主査 上野 修一 副査 佐藤 格夫 副査 岡 靖哲 副査 岩波 純 副査 船水 尚武

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

審査結果の要旨

【目的】

特殊な意識障害であるせん妄では、炎症反応が関連しているとの報告がある。申請者は、せん妄モデルラット脳内では、モノアミン性神経伝達物質ドパミンが上昇し、結果として炎症反応が抑制されることを観察したことから、この研究では、せん妄でのドパミンとミクログリアの関係について明らかにすることを目的とした。

【方法】

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、生理食塩水を投与した対照群と比較した。それぞれのラットには、頭部に電極を埋め込み脳波を測定した後に、ソフトウェアにて解析した。フローサイトメトリーにてミクログリア分画を抽出し、in vitroでのミクログリア解析に細胞を培養した。遺伝子 mRNA 発現は定量的 RT-PCR(qPCR)を用い、モノアミン性神経伝達物質定量は高速液体クロマトグラフ(HPLC)、ドパミン受容体 D1(D1R)のミクログリア発現は免疫組織化学的に行った。cAMP 定量には酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)を用いた。なお、動物実験は愛媛大学医学部動物実験倫理委員会にて承認されている(承認番号:05-U-42-2)。

【結果】

まず、ミクログリア初代培養細胞での発現を調べた結果、D1R とドパミン受容体 D4R の遺伝

子 mRNA 発現が多いことが分かった。D1R が実際に機能しているかを調べるため、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、ドパミン受容体アゴニスト SKF-81297 (SKF) 負荷では上昇したが、ドパミン (DA) 負荷では変化しなかった。これは共発現している D4R がアデニル酸シクラーゼ活性を抑えるためと考えられた。一方、両薬剤はインターロイキン 1 β (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、ラット前頭葉から分離したミクログリア分画で調べたところ、D4R 遺伝子が最も多く発現し、D1R と D2R 遺伝子も発現していることを確認した。また、免疫組織学的検討においてもミクログリア上に D1R タンパク質は発現していた。

続いて、LPS 投与後の脳内神経伝達物質濃度を HPLC で測定したところ、DA 濃度は経時的に上昇していた。また、このラットの脳波測定から睡眠覚醒リズムの乱れが確認され、せん妄モデルラットと考え以後の解析を行った。脳内炎症を調べるために、前頭葉ミクログリア分画の起炎症性サイトカイン mRNA 発現を測定したところ、LPS 投与群では、対照群と比較し高値を示し、ミクログリアが炎症の主座であることが分かった。前頭葉全体でのサイトカインも経時的に上昇しており、LPS 投与 21 時間では TNF α は抑制されていた。D1R アンタゴニストである SCH-23390 (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 を投与したところ、脳内 DA 濃度やノルアドレナリン濃度が上昇し、起炎症性サイトカインの発現が抑制された。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。SKF 投与では抗炎症作用を示し、LPS 投与により低下していたラットの運動量が増加した。以上から、DA には抗炎症作用があり、その作用は主に 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 作動薬は、せん妄に対する新たな治療薬になると思われる。

【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 のミクログリアでの起炎症性化抑制作用は主に D1R を介して発揮される。せん妄の病因としてミクログリアを介した脳内炎症が推定されており、L-DOPA などのパーキンソン病治療薬投与が、せん妄の治療に有効である可能性が示された。

公開審査会は令和 5 年 4 月 12 日に開催され、申請者は研究内容を英語で発表した後に、本研究に関する審査が行われた。1) せん妄モデル動物について；モデル動物としての適切性、他のモデル動物との比較、投与 LPS 量、観察期間、低活動性せん妄モデルであることなど、2) せん妄の評価方法について；睡眠リズムや位相の異常など睡眠変化の詳細、行動変化など他の指標など、3) 測定物質について；脳での他の神経伝達物質の変化、血液での炎症性物質の変化など、4) 臨床と関連について；臨床症状や治療薬物など、5) 今後検討しなければいけない点；臨床応用、薬物投与後の評価など、と多分野での質問・意見が出され、申請者は慎重に、かつ、適切に応答した。以上から、審査委員は申請者が本論文関連領域に対して学位授与に値する十分な見識と能力を有することを全員一致で確認し、本論文が学位授与に値すると判定した。