



Tacrolimus, a specific inhibitor of calcineurin, modifies the locomotor activity of quinpirole, but not that of SKF82958, in male rats

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-31 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 坂ノ上, 政綱 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1236

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 383号	学位授与年月日	平成14年 3月26日
氏 名	坂ノ上 政 綱		
論文題目	<p>Tacrolimus, a specific inhibitor of calcineurin, modifies the locomotor activity of quinpirole, but not that of SKF82958 in male rats (カルシニューリン特異的阻害薬タクロリムスはQuinpirole による雄性ラットの移所行動を修飾するが、SKF82958 による移所行動には影響を及ぼさない)</p>		

博士(医学) 坂ノ上 政 綱

論文題目

Tacrolimus, a specific inhibitor of calcineurin, modifies the locomotor activity of quinpirole, but not that of SKF82958, in male rats

(カルシニューリン特異的阻害薬タクロリムスは Quinpirole による雄性ラットの移所行動を修飾するが、SKF82958による移所行動には影響を及ぼさない)

論文の内容の要旨

〔目的〕

齧歯動物においてメタンフェタミン(MAP)は、低用量では移所行動を増加させ、高用量では常同行動を引き起こすことが知られている。最近、我々はMAPによって生ずる移所行動量の増加、及び反復投与により形成される逆耐性現象をカルシニューリン阻害剤であるタクロリムス(FK506)が抑制することを見いだした。MAPにより誘発される行動変化の発現には、主にドーパミン神経伝達系が関与していると考えられている。そこで、D1およびD2/3アゴニストにより誘発される行動に対するタクロリムスの作用を調べた。

〔方法〕

Wistar系雄性ラット(200~250g)を用いた。D1アゴニストとして(±)SKF82958を、D2/3アゴニストとしてQuinpiroleを用いた。タクロリムスはTween60に、SKF82958とQuinpiroleは生理食塩水に溶解し、それぞれ1 ml/kgの容量で腹腔内投与した。

実験 1) 複数の用量のSKF82958またはQuinpiroleにより誘発される行動変化に対するタクロリムスの効果

i) SKF82958への効果

タクロリムス2 mg/kgを投与し、その10分後にSKF82958を0 mg/kg(生理食塩水のみ)、0.1 mg/kg、1 mg/kg、5 mg/kgの用量で投与した(それぞれの処置につき、n=9)。SKF82958を投与してから90分間、移所行動量を行動観察装置(SCANET SV-10、東洋産業(株))にて計測した。

ii) Quinpiroleへの効果

タクロリムス2 mg/kgを投与し、その10分後にQuinpiroleを0 mg/kg(生理食塩水のみ)、0.1 mg/kg、0.25 mg/kg、0.5 mg/kg、1 mg/kg、3 mg/kgの用量で投与した(それぞれの処置につき、n=9)。そして、90分間の移所行動量を計測した。

実験 2) SKF82958とQuinpiroleにより誘発される移所行動に対する複数の用量のタクロリムスの効果
タクロリムスを0 mg/kg(Tween 60のみ)、0.5 mg/kg、1 mg/kg、2 mg/kg、5 mg/kgの用量で投与した。その10分後、それぞれに対して、生理食塩水のみ、SKF82958 1 mg/kg、Quinpirole 0.5 mg/kgを投与し(それぞれの処置につき、n=9)、90分間の移所行動量を計測した。

〔結果〕

実験 1) 複数の用量の SKF82958 または Quinpirole により誘発される行動変化に対するタクロリムスの効果

i) SKF82958 への効果

SKF82958 は用量依存性に移所行動量を増加させた。タクロリムス 2 mg/kg の投与は、SKF82958 の用量依存性の移所行動量の増加に影響を与えなかった。

ii) Quinpirole への効果

Quinpirole 投与後の移所行動量は逆 U 字型を示した。タクロリムス 2 mg/kg は、この用量反応曲線を左方移動させるとともに行動量を増加させた。

実験 2) SKF82958 と Quinpirole により誘発される移所行動に対する複数の用量のタクロリムスの効果
タクロリムスは、いずれの用量においても SKF82958 2 mg/kg 投与により誘発される移所行動量に影響を与えなかった。しかし、タクロリムスは用量非依存性に Quinpirole 0.5 mg/kg 投与により誘発される移所行動量を増強した。

〔考察〕

タクロリムスは SKF82958 による移所行動量増加に影響を与えなかった。このことから、カルシニューリンは D1 様受容体に関与した移所行動には関与しないことが示唆される。しかし、タクロリムスは Quinpirole による逆 U 字型の用量反応曲線を左方移動させ、さらに移所行動量を増加させた。このことから、カルシニューリンは D2/3 受容体が関与する移所行動量に抑制的に作用していることが示唆される。

D1 様受容体や D2/3 様受容体を活性化すると、cAMP やカルシニューリンが関与して DARPP-32 のリン酸化や脱リン酸化が起きる。そして、D1 様受容体と D2/3 様受容体はこのカスケードの中では、拮抗し合うことが知られている。従って、タクロリムスが DARPP-32 を介してその作用を発揮する場合には、SKF82958 への効果と Quinpirole への効果は相反するものとして現れることが期待される。しかし、タクロリムスは SKF82958 に何の影響も与えなかった。従って、Quinpirole へのタクロリムスの効果は DARPP-32 を介するものとは異なる機序によるものと考えられる。D2/3 様受容体の活性化は、L タイプのカルシウム電流を低下させることが知られている。これは cAMP を介さない現象で、カルシニューリンによって遮断される。タクロリムスはこのような機構に干渉することにより、Quinpirole の反応性を増大させたことが推測される。

論文審査の結果の要旨

パーキンソン病や分裂病などの神経疾患や精神疾患に脳内ドーパミン神経系の活動異常が関係することはすでによく知られている。ドーパミンニューロンの標的細胞はおもに前頭前野、線条体、側坐核などに存在する中型の棘状細胞 (medium spiny neurons) であり、ドーパミン入力 D_1 様受容体および D_2 様受容体を介して棘状細胞内のシグナル伝達に影響を与える。棘状細胞には Ca^{2+} /カルモジュリン依存性ホスファターゼ (Ca^{2+} /calmodulin-dependent phosphatase) であるカルシニューリン (calcineurin : CN) が高濃度に含まれており、ドーパミン作動薬により誘発される常同行動や移所行動などの異常行動と Ca^{2+} /CN 系の関係が注目されている。申請者のグループは先行研究において、ドーパミンリリーザーであるメタンフェタミンにより誘発される異常行動を Ca^{2+} /CN 系が促進することを見いだしている。そこで、今回の研究で

は、ドーパミン作動薬誘発性の異常行動と Ca^{2+}/CN 系の関係についての理解をさらに深めるために、それぞれ D_1 受容体と D_2/D_3 受容体の選択的作動薬である SKF82958 (SKF) と Quinpirole (QNP) により誘発される移所行動にカルシニューリン阻害薬であるタクロリムス (免疫抑制剤 FK506) がいかなる効果を及ぼすかを調べた。

対象の選定と方法は以下の通りである。

Wistar 系雄性ラットを用いた。タクロリムスは Tween60 に、SKF と QNP は生理食塩水に溶かして腹腔内 (1 ml/kg) に投与した。移所行動は SCANET SV-10 装置を用いて 90 分間測定した。実験は、(1) 複数用量の SKF または QNP 投与による移所行動の変化に及ぼす単一用量のタクロリムスの効果と (2) 単一用量の SKF または QNP 投与による移所行動の変化に及ぼす複数用量のタクロリムスの効果の 2 つに分けておこなった。

おもな結果は以下の通りである。

- (1) SKF (0.1、1、5 mg/kg) は移所行動量を用量依存的に増加させた。SKF の行動効果は、タクロリムス (2 mg/kg) の前処置 (SKF 投与 10 分前) により有意な影響を受けなかった。また、タクロリムス (0.5、1、2、5 mg/kg) を増減しても SKF (1 mg/kg) により誘発される移所行動量に有意な変化は認められなかった。すなわち、タクロリムスは SKF により誘発される移所行動量の増加に影響を及ぼさなかった。
- (2) QNP は少量 (0.1 mg/kg) で移所行動量を抑制した。しかしながら、大量 (0.25、0.5、1、3 mg/kg) では移所行動量は逆 U 字型の増加を示した。QNP による行動量の増加は、タクロリムス (2 mg/kg) の前処置 (QNP 投与 10 分前) によりさらに促進された。また、タクロリムス (0.5、1、2、5 mg/kg) は QNP (0.5 mg/kg) により誘発される移所行動量を用量非依存的に増強した。すなわち、タクロリムスは QNP により誘発される移所行動量を増強することが明らかになった。

申請者はこれらの結果に基づいて、 Ca^{2+}/CN 系は (1) D_1 受容体を介する移所行動の発現には関与しないが、(2) D_2/D_3 受容体を介する移所行動の発現には抑制性に関与すると結論している。

これに対し審査委員会では、本研究がドーパミン受容体サブタイプにより誘発される移所行動と Ca^{2+}/CN 系の関係を初めて明らかにしたものであり、ドーパミン系の異常を原因の一つとする神経・精神疾患の複雑な背景機序の解明のための基礎的知見を提供するものと高く評価された。

本論文の審査過程において、主として次のような質疑が行われた。

- 1) 行動測定はどのような環境で行われたか
- 2) 移所行動と常同行動の違いは
- 3) 行動量の測定時間を 90 分とした理由
- 4) メタンフェタミンのドーパミン神経に対する作用機序は
- 5) メタンフェタミンのドーパミン以外の伝達物質系に対する作用は
- 6) メタンフェタミン誘発性異常行動に NMDA 受容体はどの程度関与するか
- 7) カルシニューリンは constitutive に存在するか
- 8) タクロリムスの用量はどのようにして決めたか
- 9) タクロリムスは血液脳関門を通過するか
- 10) タクロリムスの作用は Ca^{2+}/CN 系だけか
- 11) タクロリムスの溶媒に Tween60 を用いた理由
- 12) 少量の QNP による移所行動量の減少に対してタクロリムスは効果があったか

- 13) ドーパミン受容体に対する SKF と QNP の結合常数は
- 14) SKF と QNP により二次的にドーパミンが放出されることはないか、あれば行動効果に影響しないか
- 15) DARP-32 のノックアウト動物に対する D_1 と D_2 受容体賦活薬の行動効果はどうか

これらの質問に対する申請者の解答は適切であり、問題点もよく把握しており、博士(医学)の学位論文にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者 主査 中 原 大 一 郎
 副査 梅 村 和 夫 副査 浦 野 哲 盟