

(続紙 1)

京都大学	博士 (薬学)	氏名	松尾 剛明
論文題目	アリピプラゾールおよびクルクミンの細胞内ドパミン制御機構に関する研究		
(論文内容の要旨)			
<p>ドパミンは中枢神経系において錐体外路系の運動調節や情動に関わる神経伝達物質であり、パーキンソン病や統合失調症を始めとする様々な神経精神疾患の病態に深く関与しており、酸化ストレスを生じドパミンニューロン死の一因となることが示唆されている。非定型抗精神病薬の一つであるアリピプラゾールは、ドパミンD₂受容体の部分作動薬であり、ドパミンニューロン活動を制御することが報告されてきた。一方、ポリフェノールの一つであるクルクミンは抗うつ作用などのモノアミン系賦活作用が報告されている。著者は本研究において、アリピプラゾールおよびクルクミンのドパミン系に対する作用に着目し、ドパミンニューロン生存および細胞内ドパミンの制御機構に関する検討を行い、以下の新知見を得た。</p>			
第一章 アリピプラゾールのグルタミン酸誘発ドパミンニューロン死に対する保護作用			
<p>ブロモクリプチンやプラミペキソールなどのドパミンD₂受容体アゴニストは、ドパミンニューロンに対して保護作用を示すことが報告されている。そこで、ドパミンD₂受容体の部分作動薬であるアリピプラゾールがグルタミン酸誘発ドパミンニューロン死に与える影響について検討した。アリピプラゾールの前処置はラット中脳初代培養細胞におけるグルタミン酸誘発ドパミンニューロン死を抑制した。この神経保護作用はドパミンD₂受容体アンタゴニストであるスルピリドによって抑制されなかった。ドパミンは化学的に不安定で反応性が高いため、ドパミンニューロンの脆弱性に寄与することが示唆されている。そこで細胞内ドパミン量を測定したところ、アリピプラゾールは濃度依存的な細胞内ドパミン量低下作用を示した。神経保護作用への細胞内ドパミン量低下の関与を明らかにするためにアリピプラゾール処置後に外来性にドパミンを加えたところ、アリピプラゾールの保護作用は部分的に抑制され、ドパミントランスポーター阻害薬の同時適用により消失した。以上の結果より、アリピプラゾールはグルタミン酸誘発ドパミンニューロン死に対して保護作用を発現し、その機序として細胞内ドパミン量低下が重要な役割を果たすことが示唆された。</p>			
第二章 抗精神病薬の細胞内ドパミン制御機構に対する作用			
<p>統合失調症の治療薬である抗精神病薬は、定型抗精神病薬およびセロトニン・ドパミンアンタゴニスト、ドパミン部分アゴニストなどの非定型抗精神病薬に分類され、これらの薬物のドパミン神経伝達に対する作用について多くの研究が行われてきたが、細胞内ドパミン量に対する作用については解析が行われていなかった。そ</p>			

ここで、ドパミンニューロンのモデルとしてラット副腎髄質由来PC12細胞を用い、定型（ハロペリドール、スピペロン、ピモジド、クロルプロマジン、スルピリド）、非定型（アリピプラゾール、リスペリドン、オランザピン）の作用を検討した。これら8種類の抗精神病薬のうちハロペリドール、スピペロン、ピモジド、アリピプラゾールの処置により、細胞内ドパミン量は大きく低下することが明らかになった。これらの薬物は、ドパミン生合成律速酵素チロシンヒドロキシラーゼの総タンパク量およびリン酸化に影響を与えなかったが、一過性に細胞外ドパミン代謝物量を増加した。さらに、ジギトニンで膜透過処理を施したPC12細胞を用いて小胞内へのドパミン取り込みを検討したところ、これらの薬物はいずれもドパミン取り込みを抑制した。以上の結果より、検討した抗精神病薬のうちハロペリドール、スピペロン、ピモジド、アリピプラゾールは、vesicular monoamine transporter (VMAT)を介する小胞内へのドパミン取り込みを抑制し、細胞内ドパミン量を低下することが示唆された。

第三章 クルクミンの細胞内ドパミン制御機構に対する作用

ポリフェノール的一种であるクルクミンは、種々の中枢神経作用を示し、ドパミン系に対する作用として脳内ドパミン量を増加することが*in vivo*の実験により示唆されてきたが、ドパミン遊離機構に対する作用の詳細については不明のままであった。そこで本研究では、PC12細胞を用いてクルクミンのドパミン遊離に対する作用を検討した。細胞外ドパミン量について調べたところ、クルクミンは細胞外ドパミン量を顕著に増加した。このクルクミンによる細胞外ドパミン量の上昇は細胞外カルシウム非存在下でも生じた。遊離されたドパミンは細胞膜モノアミントランスポーターにより再取り込みされることが知られていることから、再取り込みされるドパミン量を算出し、細胞外ドパミン量からドパミン遊離量を求めた。その結果、クルクミンの処置によりドパミン遊離は増加したが、この増加は細胞膜モノアミントランスポーター阻害薬により抑制されることが明らかになった。以上の結果より、クルクミンは細胞膜トランスポーターによる逆輸送を促進してドパミン遊離を増加することが示唆された。

以上、著者は、アリピプラゾールは小胞へのドパミン取り込みを抑制することにより細胞内ドパミン量を低下し、ドパミンニューロンの脆弱性を改善することを示した。さらに、ポリフェノール的一种であるクルクミンが細胞膜トランスポーターを介してドパミン遊離を促進することを見出した。本研究の成果は、アリピプラゾールおよびクルクミンによる細胞内ドパミン制御機構を示したものであり、新たな抗精神病薬、パーキンソン病治療薬の創製に有用な基礎的知見を提供するものである。

(論文審査の結果の要旨)

ドパミンは中枢神経系において錐体外路系の運動調節や情動に関わる神経伝達物質であり、パーキンソン病や統合失調症を始めとする様々な神経精神疾患の病態に深く関与しており、酸化ストレスを生じドパミンニューロン死の一因となることが示唆されている。非定型抗精神病薬の一つであるアリピプラゾールは、ドパミンD₂受容体の部分作動薬であり、ドパミンニューロン活動を制御することが報告されてきた。一方、ポリフェノールの一つであるクルクミンは抗うつ作用などのモノアミン系賦活作用が報告されている。本研究において、アリピプラゾールおよびクルクミンのドパミン系に対する作用に着目し、ドパミンニューロン生存および細胞内ドパミンの制御機構に関する解析を行った。

ブロモクリプチンやプラミペキソールなどのドパミンD₂受容体アゴニストは、ドパミンニューロンに対して保護作用を示すことが報告されている。そこで、ドパミンD₂受容体の部分作動薬であるアリピプラゾールがグルタミン酸誘発ドパミンニューロン死に与える影響について検討した。アリピプラゾールの前処置はラット中脳初代培養細胞におけるグルタミン酸誘発ドパミンニューロン死を抑制した。この神経保護作用はドパミンD₂受容体アンタゴニストであるスルピリドによって抑制されなかった。ドパミンは化学的に不安定で反応性が高いため、ドパミンニューロンの脆弱性に寄与することが示唆されている。そこで細胞内ドパミン量を測定したところ、アリピプラゾールは濃度依存的な細胞内ドパミン量低下作用を示した。神経保護作用への細胞内ドパミン量低下の関与を明らかにするためにアリピプラゾール処置後に外来性にドパミンを加えたところ、アリピプラゾールの保護作用は部分的に抑制され、ドパミントランスポーター阻害薬の同時適用により消失した。以上の結果より、アリピプラゾールはグルタミン酸誘発ドパミンニューロン死に対して保護作用を発現し、その機序として細胞内ドパミン量低下が重要な役割を果たすことが示唆された。

統合失調症の治療薬である抗精神病薬は、定型抗精神病薬およびセロトニン・ドパミンアンタゴニスト、ドパミン部分アゴニストなどの非定型抗精神病薬に分類され、これらの薬物のドパミン神経伝達に対する作用について多くの研究が行われてきたが、細胞内ドパミン量に対する作用については解析が行われていなかった。そこで、ドパミンニューロンのモデルとしてラット副腎髄質由来PC12細胞を用い、定型（ハロペリドール、スピペロン、ピモジド、クロルプロマジン、スルピリド）、非定型（アリピプラゾール、リスペリドン、オランザピン）の作用を検討した。これら8種類の抗精神病薬のうちハロペリドール、スピペロン、ピモジド、アリピプラゾールの処置により、細胞内ドパミン量は大きく低下することが明らかになった。これらの薬物は、ドパミン生合成律速酵素チロシンヒドロキシラーゼの総タンパク量およびリン酸化に影響を与えなかったが、一過性に細胞外ドパミン代謝物量を増加した。さらに、ジギトニンで膜透過処理を施したPC12細胞を用いて小胞内へのドパミン取り込みを検討したところ、これらの薬物はいずれもドパミン取り込みを抑制し

た。以上の結果より、検討した抗精神病薬のうちハロペリドール、スピペロン、ピモジド、アリピプラゾールは、vesicular monoamine transporter (VMAT)を介する小胞内へのドパミン取り込みを抑制し、細胞内ドパミン量を低下することが示唆された。

ポリフェノール的一种であるクルクミンは、種々の中枢神経作用を示し、ドパミン系に対する作用として脳内ドパミン量を増加することが*in vivo*の実験により示唆されてきたが、ドパミン遊離機構に対する作用の詳細については不明のままであった。そこで本研究では、PC12細胞を用いてクルクミンのドパミン遊離に対する作用を検討した。細胞外ドパミン量について調べたところ、クルクミンは細胞外ドパミン量を顕著に増加した。このクルクミンによる細胞外ドパミン量の上昇は細胞外カルシウム非存在下でも生じた。遊離されたドパミンは細胞膜モノアミントランスポーターにより再取り込みされることが知られていることから、再取り込みされるドパミン量を算出し、細胞外ドパミン量からドパミン遊離量を求めた。その結果、クルクミンの処置によりドパミン遊離は増加したが、この増加は細胞膜モノアミントランスポーター阻害薬により抑制されることが明らかになった。以上の結果より、クルクミンは細胞膜トランスポーターによる逆輸送を促進してドパミン遊離を増加することが示唆された。

以上、アリピプラゾールは小胞へのドパミン取り込みを抑制することにより細胞内ドパミン量を低下し、ドパミンニューロンの脆弱性を改善することを示した。さらに、ポリフェノール的一种であるクルクミンが細胞膜トランスポーターを介してドパミン遊離を促進することを見出した。本研究の成果は、アリピプラゾールおよびクルクミンによる細胞内ドパミン制御機構を示したものであり、新たな抗精神病薬、パーキンソン病治療薬の創製に有用な基礎的知見を提供するものである。

よって本論文は博士（薬学）の学位論文として価値あるものと認める。

さらに、平成23年2月21日論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 平成 年 月 日以降