

|          |                                      |
|----------|--------------------------------------|
| 氏名       | わた なべ たけし<br>渡 辺 豪                   |
| 学位(専攻分野) | 博士(薬学)                               |
| 学位記番号    | 薬博第491号                              |
| 学位授与の日付  | 平成14年3月25日                           |
| 学位授与の要件  | 学位規則第4条第1項該当                         |
| 研究科・専攻   | 薬学研究科生命薬科学専攻                         |
| 学位論文題目   | 麻薬禁断症候発現時の精神変容における扁桃体の役割に関する神経薬理学的研究 |

論文調査委員 (主査) 教授 佐藤 公道 教授 赤池 昭紀 教授 市川 厚

### 論 文 内 容 の 要 旨

モルヒネなどの麻薬性鎮痛薬は、強力な鎮痛作用を有することから疼痛治療の現場において欠くことのできない薬物であるが、その連続使用により「麻薬」依存を引き起こす可能性があることから、適正な使用が妨げられているのが現状である。麻薬依存には身体的依存と精神的依存が存在し、薬物の適用中止あるいはナロキソン等の拮抗薬の適用により、不快な精神症状を伴った禁断症候が発現する。一方、扁桃体は大脳辺縁系に属し、外部からの各種感覚情報を受容し、それらを不安、恐怖などの情動反応として発現する機能や、自律神経系応答に至る統合機能に重要な役割を果たしていることが知られており、さらに麻薬依存への関与も指摘されている部位である。扁桃体は、基底外側核群、中心核、および皮質内側核群などの幾つかの亜核により構成されており、最近、恐怖条件付け行動、あるいはコカイン探索行動等への寄与について、これらの亜核間の機能差を示す報告が幾つかなされている。本研究では、モルヒネ禁断症候発現時の不快な精神症状(嫌悪反応)の発現メカニズムを明らかにするため、扁桃体に着目した神経薬理学的検討を行い、条件付け場所嗜好性試験によって得られる場所嫌悪反応を指標とし、以下の新知見を得た。

#### 第一章 ナロキソン誘発モルヒネ禁断場所嫌悪反応に関与する扁桃体亜核の同定

まず、モルヒネ依存ラットにおいて、ナロキソン腹腔内投与により誘発される禁断症候発現時の扁桃体ニューロンの活性化を *c-fos* mRNA 発現を指標として、*in situ* ハイブリダイゼーション法により検討した。その結果、中心核において強い *c-fos* mRNA 発現誘導が認められたが、基底外側核群ではその発現はほとんど観察されなかった。次に、モルヒネ依存ラットにおいて、ナロキソン誘発禁断によって条件付けされる場所嫌悪反応に対して、中心核あるいは基底外側核を選択的に損傷した際の影響を検討した。ナロキソン誘発場所嫌悪反応は、予め限局的に中心核を損傷しておくことにより有意に減弱されたが、基底外側核の損傷群においては、有意な変化は見られなかった。これらの結果から、ナロキソン誘発場所嫌悪反応の発現には、扁桃体中心核のニューロンの活性化が重要な役割を果たしていることが示唆される。

#### 第二章 ナロキソン誘発モルヒネ禁断場所嫌悪反応における扁桃体中心核のグルタミン酸神経系の関与

グルタミン酸は、中枢神経系において記憶・学習などの神経可塑性に基づく脳高次機能を調節する興奮性神経伝達物質であり、モルヒネによる身体的、及び精神的依存の形成にも関与していることが知られている。本章では、モルヒネ禁断症候発現時の不快な精神症状における中心核のグルタミン酸神経系の役割を検討するため、まず、ナロキソン誘発禁断症候発現時の細胞外グルタミン酸濃度の変化を *in vivo* マイクロダイアリシス法により測定した。その結果、中心核内においてナロキソン投与後、10分から20分をピークとする一過性の細胞外グルタミン酸濃度の上昇が見られた。そこで次に、各種グルタミン酸受容体拮抗薬をナロキソンによる条件付けの10分前に両側の中心核に微量投与し、ナロキソン誘発場所嫌悪反応に及ぼす影響を検討した。その結果、AMPA/kainate 型受容体拮抗薬 CNQX (30nmol/side)、非競合的 NMDA 受容体拮抗薬 MK-801 (30nmol/side)、及び競合的 NMDA 受容体拮抗薬 D-CPPene (0.01, 0.1nmol/side) により、ナロキソン誘発場所嫌悪反応は PBS 投与群と比較して有意に減弱された。これらの結果から、禁断症候発現時には、中心核内においてグ

ルタミン酸の遊離が促進され、このグルタミン酸が AMPA/kainate 型、及び NMDA 受容体を介してナロキソン誘発場所嫌悪反応に関与していることが示唆される。

### 第三章 ナロキソン誘発モルヒネ禁断場所嫌悪反応における扁桃体中心核のノルアドレナリン神経系の関与

ノルアドレナリン (NA) は各種ストレス応答に関与するモノアミンの一つであり、モルヒネ依存にも深く関与していることが報告されている。扁桃体中心核は、延髄 A1/A2 領域や、一部青斑核 (A6) からの NA 神経の投射を受けていることが知られていることから、本章では、扁桃体中心核における NA の関与を検討した。まず、ナロキソン誘発禁断症候発現時の中心核内における細胞外 NA 濃度の変化を *in vivo* マイクロダイアリシス法により測定したところ、ナロキソン投与後、20分から40分をピークとする一過性の上昇が見られた。また、ナロキソン誘発場所嫌悪反応は、 $\alpha$ -アドレナリン受容体拮抗薬フェントラミン (30nmol/side)、 $\beta$ -アドレナリン受容体拮抗薬プロプラノロール (30nmol/side)、及びチモロール (10nmol/side) を中心核内に両側性に前処置することにより、いずれも有意に減弱された。さらに、 $\beta$ 1-受容体拮抗薬アテノロール (30nmol/side)、あるいは  $\beta$ 2-受容体拮抗薬ブトキサミン (30nmol/side) によっても有意に減弱された。また、延髄 A1/A2 領域由来の腹側 NA 神経束を神経毒により破壊することにより、ナロキソン誘発場所嫌悪反応、及び中心核における *c-fos* mRNA 発現誘導は有意に減弱されたが、青斑核 (A6) 由来の背側 NA 神経束の破壊によっては、それらに有意な変化は見られなかった。これらの結果から、禁断症候発現時には、延髄 A1/A2 領域由来の NA 神経の活性化により、中心核内において NA の遊離が促進され、この NA が  $\alpha$ -、及び  $\beta$ -アドレナリン受容体を介してナロキソン誘発場所嫌悪反応に関与していることが示唆される。

以上、著者は、ナロキソン誘発場所嫌悪反応の発現には、扁桃体中心核のニューロンの活性化が関与していること、中心核におけるグルタミン酸神経系の活性化、及び延髄 A1/A2 領域から中心核へ投射する NA 神経系の活性化が重要な役割を果たしていることを明らかにした。本研究の成果は、モルヒネ禁断症候発現時の不快な精神症状における扁桃体の役割、及びその物質的基盤の一部を明らかにしたものである。

## 論文審査の結果の要旨

モルヒネの長期連用後の退薬あるいはナロキソンなどの拮抗薬の投与により、不快な精神症状を伴った禁断症候が発現する。しかし、このような不快な精神症状発現のメカニズムはほとんど解明が進んでいない。一方、大脳辺縁系を構成する扁桃体は、各種感覚情報を受容し、情動反応や自律神経系応答を発現する統合的機能を担っていることが知られており、オピオイド受容体拮抗薬の扁桃体内局所適用の実験などから、扁桃体が麻薬依存に関与することも指摘されてきた。そこで著者は、モルヒネ禁断症状発現時の不快な精神症状の発現における扁桃体の役割について検討し、以下のような新知見を得た。

### 第一章 ナロキソン誘発モルヒネ禁断場所嫌悪反応に関与する扁桃体垂核の同定

ナロキソン誘発モルヒネ禁断症状発現後の扁桃体においては、主に中心核で *c-fos* mRNA (ニューロン興奮のマーカー) の強い発現誘導が認められたが、基底外側核ではその発現はほとんど観察できなかった。また、中心核あるいは基底外側核を選択的且つ限局的に損傷した場合、中心核の損傷によりナロキソン誘発モルヒネ場所嫌悪反応は減弱したが、基底外側核の損傷では有意に影響を認めなかった。これらの結果から、モルヒネ禁断場所嫌悪反応の発現には中心核ニューロンの活性化が重要な役割を果たしていることが示唆される。

### 第二章 ナロキソン誘発モルヒネ禁断場所嫌悪反応における扁桃体中心核のグルタミン酸神経系の関与

扁桃体中心核の細胞外グルタミン酸濃度変化を *in vivo* マイクロダイアリシス法により測定したところ、ナロキソン誘発モルヒネ禁断症状発現時に、ナロキソン投与後10~20分をピークとする一過性の細胞外グルタミン酸濃度の上昇が観察された。次に、各種グルタミン酸受容体拮抗薬 (AMPA/kainate 型: CNQX, 非競合的 NMDA 型: MK-801, 競合的 NMDA 型: D-CPPene) を両側中心核に微量投与すると、ナロキソン誘発場所嫌悪反応は有意に減弱した。これらの結果から、禁断症状発現時には、中心核内でグルタミン酸遊離が促進され、そのグルタミン酸が AMPA/kainate 型および NMDA 型受容体を介してナロキソン誘発場所嫌悪反応の発現に関与していることが示唆される。

### 第三章 ナロキソン誘発モルヒネ禁断場所嫌悪反応における扁桃体中心核のノルアドレナリン神経系の関与

扁桃体中心核の細胞外ノルアドレナリン (NA) 濃度変化を *in vivo* マイクロダイアリシス法により測定したところ、ナ

ロキソン誘発モルヒネ禁断症状発現時に、ナロキソン投与後20~40分をピークとする一過性の細胞外 NA 濃度の上昇が観察された。また、各種アドレナリン受容体拮抗薬 ( $\alpha$  受容体: フェントラミン,  $\beta$  受容体: プロプラノロールおよびチモロール,  $\beta_1$  受容体: アテノロール,  $\beta_2$  受容体: ブトキサミン) の両側中心核への微量投与により、ナロキソン誘発場所嫌悪反応は有意に減弱した。さらに、神経毒を用いて延髄 A1/A2 領域由来の背側 NA 神経束を破壊すると、ナロキソン誘発場所嫌悪反応および中心核内の *c-fos* mRNA 発現誘導は有意に減弱されたが、青斑核由来の背側 NA 神経束を破壊してもそれらに有意な変化は見られなかった。これらの結果は、モルヒネ禁断症状発現時には延髄 A1/A2 領域由来の背側 NA 神経の活性化により扁桃体中心核内で NA 遊離が促進され、この NA が  $\alpha$  および  $\beta$  アドレナリン受容体を介してナロキソン誘発場所嫌悪反応発現に関与していることを示唆している。

以上著者は、ナロキソン誘発モルヒネ禁断場所嫌悪反応の発現に、扁桃体中心核におけるグルタミン酸神経系および NA 神経系 (特に延髄 A1/A2 領域由来の背側 NA 神経系) の活性化が重要な役割を果たしていることを明らかにした。本研究成果は、モルヒネ禁断症候発現時の不快な精神症状における扁桃体の役割、その物質的基盤の全体像の解明に資する知見であると考えられる。

よって、本論文を博士 (薬学) の論文として価値あるものと認める。さらに、平成14年2月28日に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。