

氏 名	お 小 川 正 晃
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 3157 号
学位授与の日付	平 成 19 年 11 月 26 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	医 学 研 究 科 生 理 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Altered sensitivities to morphine and cocaine in scaffold protein tamalin knockout mice (足場蛋白タマリンのノックアウトマウスにおけるモルヒネとコカインに対する感受性の変化)
論文調査委員	(主 査) 教 授 大 森 治 紀 教 授 金 子 武 嗣 教 授 武 藤 誠

論 文 内 容 の 要 旨

Tamalin は、PDZ ドメイン、ロイシンジッパー領域、PDZ ドメイン結合モチーフといった複数の蛋白間結合構造をもつ、神経シナプス後膜にある足場蛋白である。Tamalin は、その PDZ ドメインを介して代謝型グルタミン酸受容体グループ 1 型の mGluR1,5 と、そのロイシンジッパー領域を介してグアニンヌクレオチド交換因子である Cytohesin と結合し、培養細胞の系において mGluR1,5 の細胞内輸送と局在を制御する。また脳内において、PSD-95 をはじめとする他の種々のシナプス後膜の足場蛋白や輸送蛋白とともに、c-Src や SHP2 などのチロシンリン酸化を制御するシグナル分子とも、蛋白複合体を形成する。さらに培養細胞の系で、Tamalin 内にある免疫系のシグナル伝達に重要な ITAM 配列は、チロシンリン酸化キナーゼ c-Src によってリン酸化され、その結果 Syk キナーゼを活性化する。また、Tamalin の mRNA は前脳領域にあって mGluR1,5 の脳内分布と重なり、その発現は生後の脳発達期に上昇する。しかしながらこれまで、Tamalin の生体脳における生理的役割については未解明であった。

本研究は、遺伝子操作により生体内において Tamalin の機能を欠損させた Tamalin ノックアウトマウス (Tam KO マウス) の作成、解析を行った。Tam KO マウスは対照群と同様に成長し、脳形態や mGluR5 の免疫染色像の組織分布、および Tamalin に結合する mGluR1,5 や細胞内の種々の蛋白の発現量に目立った異常は認められなかった。よって、主に Tam KO マウスの行動に焦点をあてて解析を行った。mGluR1,5 が関与することが知られている依存性薬物に対する反応行動について検討したところ、Tam KO マウスでは、急性のモルヒネ投与による、移所行動量増加作用および Hot plate テストにおける鎮痛効果が対照群に比べ有意に低下していた。興味深いことにこの反応低下は、モルヒネ投与後の急性期に特に顕著であった。一方、薬物非投与時の移所行動量および Hot plate テストにおける痛み回避行動では異常が認められなかった。Tail flick テストではモルヒネによる鎮痛効果に異常が認められなかったことから、Tam KO マウスの急性のモルヒネ投与による鎮痛効果の異常は上脊髄性と推定された。さらに Tam KO マウスでは、モルヒネの慢性投与による条件付け場所嗜好性テスト、およびコカインの慢性投与による移所行動量の逆耐性現象においても有意な反応性の低下が認められた。一方、慢性のモルヒネ投与による鎮痛効果の耐性現象および身体依存形成度合いに異常は認められなかった。また、運動感覚機能、感情行動、記憶学習を含む他の種々の行動実験では、Tam KO マウスに異常は認められなかった。急性のモルヒネ投与前後において、行動中マウスの側座核から細胞外ドパミン、グルタミン酸量をマイクロダイアリシス法により検討したが、対照群と同様の反応を示した。すなわち Tam KO マウスにおいて、モルヒネ投与後の細胞外ドパミン量は対照群と同様に投与前と比べ顕著に上昇する一方、細胞外グルタミン酸量は対照群と同様に投与前と比べて変化しなかった。モルヒネ投与前の両者の濃度にも違いはなかった。以上の結果から、細胞内足場蛋白である Tamalin が種々の行動のうち特にモルヒネとコカインに対する反応行動において、おそらくこれら依存性薬物が共通して作用する脳部位における細胞内情報伝達の時空間的制御を介して、独特の機能を担っていることが明らかになった。

論文審査の結果の要旨

本研究は、前脳領域の神経シナプス後膜にあり、複数の蛋白間結合構造を持つ足場蛋白 **Tamalin** の脳機能における生理的役割を解明する目的で、遺伝子工学を用いて生体内で **Tamalin** の機能を欠損させた **Tamalin** ノックアウトマウス (**Tam KO** マウス) を作成し、主に **Tamalin** の行動レベルでの役割について解析を行った。

Tam KO マウスでは、急性のモルヒネ投与による移所行動量増加作用、上脊髄性の鎮痛効果が対照群に比べ有意に低下していた。また、モルヒネの慢性投与による条件付け場所嗜好性テスト、およびコカインの慢性投与による移所行動量の逆耐性現象においても有意な反応性の低下が認められた。ところが、慢性のモルヒネ投与による鎮痛効果の耐性現象および身体依存形成度合いに異常は認められなかった。興味深いことに、急性のモルヒネ投与前後における側座核の細胞外ドパミン、グルタミン酸量は対照群と同様の反応を示した。また、脳形態、**Tamalin** に結合する種々の蛋白の発現量や分布状態については異常を認めなかった。さらに、運動感覚機能、感情行動、記憶学習を含む他の種々の行動にも異常を認めなかった。以上の結果から、**Tamalin** が、特にモルヒネとコカイン投与に対する反応行動を、おそらくこれらが共通して作用する神経回路および細胞内情報伝達系の調節を介して、独特に制御していることが明らかになった。

以上の研究は、依存性薬物であるモルヒネとコカインに対する反応行動の制御に細胞内足場蛋白の一つである **Tamalin** が関与することを示したものであり、依存性薬物反応行動の生理的な分子メカニズムの解明に寄与することが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 19 年 9 月 27 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。