

延髄・孤束核における L-DOPA 受容体 (OA1) を介したシナプス伝達調節機構の解明

研究代表者：大井義明（医療生命薬学研究ユニット）

【目的】

L-DOPAはパーキンソン病の治療において最も効果的な薬物として繁用されているが、ジスキネジアなどの運動合併症や、うつや起立性低血圧などの非運動合併症などの副作用が問題となっている。これらの副作用はCOMT阻害薬やMAO_B阻害薬の併用により軽減することは可能であるが、根本的な解決には至っていない。

これまで、L-DOPAは生体内でドパミンへと変換されて作用すると考えられてきたが、近年、L-DOPA自体が神経伝達物質として神経終末から放出され、オーファンGPCRであるGPR143 (OA1) に作用する可能性が示されている。OA1は中枢内に広く発現しており、黒質、線条体、孤束核、海馬、大脳皮質などに発現が認められている。これらの報告から、L-DOPAはそれ自体が、脳内の様々な部位でOA1などの活性化を介して種々の生理機能を調節していると考えられ、現在まだ克服されていないL-DOPAの副作用の発現にも関与している可能性が考えられる。

延髄・孤束核は呼吸や血圧の自律調節における1次中継核として知られており、それらの調節に重要な役割を果たしている。孤束核においてもL-DOPA自体が伝達物質として働いている可能性が示されており、実際に、L-DOPAの微量注入によって降圧が引き起こされ、その反応がOA1を介していることが報告されている。

しかし、現在までのところ、孤束核においてL-DOPAの作用を電気生理学的に検討した報告はなく、L-DOPAがシナプス伝達を実際に調節するという直接的な証拠は得られていない。そこで本研究では孤束核における興奮性シナプス伝達に対するL-DOPAの作用を電気生理学的に解析することを試みた。

【方法】

雄性ラットより孤束核を含む脳幹スライス標本を作製し、スライスパッチクランプ法（ホールセルパッチクランプ）により、2次ニューロンより興奮性シナプス後電流（EPSC）を記録した。膜電位は-60mVに保持し、GABA_A受容体遮断薬のpicrotoxinおよびglycin受容体遮断薬のstrychnineを灌流液に加えることにより抑制性シナ

プス伝達を遮断した。さらに芳香族L-アミノ酸脱炭酸酵素（AADC）阻害薬存在下で、L-DOPAからドパミンへの変換を阻害して実験を行った。薬物はすべて灌流液により投与した。微小EPSC（mEPSC）の観察は、灌流液にtetrodotoxinを添加することにより活動電位を遮断して、プレシナプスからの自発的なグルタミン酸の遊離のみが観察できる状態で行い、誘発性EPSC（eEPSC）は、孤束核を同芯円電極で刺激することにより誘発した。20 msのintervalで2連続刺激を与えることによりeEPSCを2回連続で誘発し、1発目のeEPSCの振幅に対する2発目のeEPSCの振幅をpaired-pulse ratioとした。

【結果】

10 μMおよび100 μM L-DOPAの投与により、mEPSCの頻度が濃度依存的に減少し、振幅は100 μMにおいてのみ有意に抑制された。次にこの作用におけるOA1受容体の関与を確認するため、OA1受容体選択的拮抗薬の存在下で10 μM L-DOPAの作用を解析したところ、拮抗薬である10 μM L-DOPA methyl esterの存在下では10 μM L-DOPAによるmEPSCの頻度減少作用は消失した。

次に、線条体において、L-DOPAはドパミンの遊離を引き起こすという報告があるため、孤束核でもその可能性を検討した。ドパミンD2受容体遮断薬であるsulpiride存在下で、10 μM L-DOPAの作用を解析したところ、10 μM sulpirideの存在下では10 μM L-DOPAのmEPSC頻度減少作用は消失した。

さらに、eEPSCに対するL-DOPAの作用も解析したところ、10 μM L-DOPAによって1発目のeEPSCのみが有意に抑制されて2発目のeEPSCは抑制されず、paired-pulse ratio（PPR）は上昇した。

【考察】

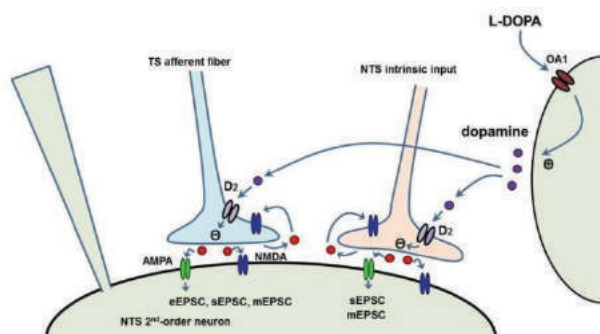
これらの結果から、10 μM L-DOPAはmEPSCの頻度を減少させ、eEPSCのPPRを上昇させたことから、プレシナプスに作用してグルタミン酸の放出を抑制している可能性が示された。100 μM L-DOPAではmEPSCの振幅も抑制されたことから、シナプス後膜にも作用している可能性も示された。

また、この作用がOA1受容体の遮断薬により遮断されたことから、L-DOPAの作用はOA1受容体の活性化を介していることが確認された。

さらにドパミンD2受容体遮断薬によりL-DOPAの作用が遮断されたことから、線条体と同様に孤束核でも、L-DOPAはドパミンの遊離を介して作用している可能性が示された。

これまでの報告では、L-DOPAは孤束核において神経伝達物質として機能しているのではないかと考えられていたが、今回の結果からはむしろ逆に、ドパミンの遊離を介して興奮性シナプス伝達を抑制するという結果が得られた（下図参照）。この違いが生じている原因は今回の結果からは不明であるが、L-DOPAは抑制性シナプス伝達にも作用している可能性も考えられる。今回は抑制性シナプス伝達をすべて遮断して実験を行ったが、L-DOPAが抑制性シナプス伝達も同様に抑制する場合、結果として興奮性のシナプス伝達が促進される可能性も考えられる。この点を明らかにするためにはさらなる研究が必要である。

以上より、今回の結果から、L-DOPAは孤束核において、ドパミンの遊離を介して興奮性シナプス伝達を抑制することが電気生理学的に初めて示された。



【謝辞】

愛知学院大学医療生命薬学研究所 医療生命薬学助成により、本研究を実施できましたことに感謝申し上げます。

【研究成果発表】

大井義明、兒玉大介、櫛 彰

孤束核における L-DOPA の微小興奮性シナプス後電流に対する作用

第 62 回日本薬学会東海支部総会・大会、名古屋、平成 28 年 7 月