

## P-2-1

### $\delta$ 受容体サブタイプ刺激が誘発したラットの側坐核ドパミン放出に対するmuscimolの効果の特徴

青野悠里<sup>1</sup>, 木口友里<sup>2</sup>, 渡邊由梨子<sup>3</sup>, 三枝 禎<sup>1</sup>

<sup>1</sup>日本大学松戸歯学部薬理学講座, <sup>2</sup>小児歯科学講座, <sup>3</sup>口腔外科学講座

側坐核のドパミン (DA) 神経活動の  $\mu$  または  $\delta$  受容体を介した促進には、DA神経を抑制するGABA神経のopioid受容体subtypeの刺激による抑制が関与することが考えられる。我々は、ラットの側坐核の  $\mu$  受容体刺激が誘発したDA放出が同部位のGABA<sub>A</sub>受容体刺激により促進することを報告した (Aono et al., 2008)。一方、側坐核の  $\delta$  受容体subtypeの選択的刺激は同部位のDA放出を増大させるが (Fusa et al., 2005)、このDA放出へのGABA<sub>A</sub>受容体刺激の影響は明らかでない。そこで本研究では、 $\delta_1$  または  $\delta_2$  受容体agonistが誘発した側坐核のDA放出に対するGABA<sub>A</sub>受容体agonistのmuscimolの効果について検討した。実験にはS-D系雄性ラット (体重約200 g) を用いた。無麻酔非拘束の条件下で *in vivo* 脳微小透析法により側坐核から回収した細胞外DAは、HPLC-ECD法により5分毎に測定した。使用薬物は透析プローブから逆透析で側坐核に25または50分間灌流投与した。投与量は灌流液中の総量 (mol) で示した。

$\delta_1$  受容体agonistのDPDPE (0.5, 5 nmol) または  $\delta_2$  受容体agonistのdeltrophen II (5, 25 nmol) を側坐核へ灌流投与したところ、同部位の細胞外DA量はそれぞれ約160%または約190%まで用量依存的に増加した。DPDPE (5 nmol) またはdeltrophen II (25 nmol) が誘発したDAの増加は、それぞれ基礎DA量に目立った影響がない用量の  $\delta_1$  受容体 antagonistのBNTX (0.15 nmol) または  $\delta_2$  受容体antagonistのnaltriben (1.5 nmol) の併用によりほぼ完全に消失した。DPDPE (5 nmol) とは異なりdeltrophen II (25 nmol) が誘発したDAの増大は、基礎DA量に影響が認められない用量のmuscimol (250 pmol) の併用投与により抑制された。

以上の結果から  $\mu$  および  $\delta_1$  受容体とは異なり、 $\delta_2$  受容体への刺激が誘発した側坐核のDA放出は同部位のGABA<sub>A</sub>受容体刺激により抑制されることが示唆された。また、 $\delta_2$  受容体刺激による側坐核のDA放出の発現には、同部位のDA神経終末のGABA<sub>A</sub>受容体へのGABA入力の低下が関与することが考えられた。

## 血糖調節における中枢ドパミンD<sub>2</sub>受容体の関与

○三上 理沙、池田 弘子、米持 奈央美、亀井 淳三

星薬科大学 薬物治療学教室

糖尿病は慢性の高血糖状態を主徴とする疾患であり、腎症や末梢神経障害といった合併症を引き起こす。したがって、血糖値を正常にコントロールすることは糖尿病治療の最大の目的といえる。血糖調節においては末梢のみならず中枢も重要な役割を果たすことが報告されているが、その詳細は明らかではない。一方、血糖調節に交感神経および副交感神経が関与することが知られている。当教室ではこれまでに、中枢のドパミンD<sub>2</sub>受容体が血糖調節に関与する可能性を示していることから、本研究では中枢のドパミンD<sub>2</sub>受容体による血糖調節機構に交感神経および副交感神経が関与するか検討した。まず、ドパミンD<sub>2</sub>受容体作動薬のquinpiroleを脳室内投与したところ、有意な血糖値の上昇が認められ、この作用はD<sub>2</sub>受容体拮抗薬のl-sulpirideにより抑制された。このことから、中枢のドパミンD<sub>2</sub>受容体の刺激により血糖値が上昇することが明らかになった。次に、quinpiroleの血糖上昇作用に対する交感神経の関与について検討する目的で、β<sub>2</sub>アドレナリン受容体拮抗薬のICI118,551を末梢投与したが、quinpiroleによる血糖上昇作用は変化しなかった。一方、quinpiroleの投与により血中のインスリン濃度は有意に減少したが、グルカゴン濃度は変化しなかった。さらに、quinpiroleの投与により肝臓における糖新生酵素 phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK) のmRNA発現量は有意に増加した。これらの結果から、中枢のドパミンD<sub>2</sub>受容体の刺激による血糖上昇作用は、インスリンの分泌抑制および糖新生の亢進によることが示唆された。インスリン分泌や肝糖産生は副交感神経によっても支配され、副交感神経は視床下部外側野 (LH) により調節されることが報告されている。そこで、LHのドパミンD<sub>2</sub>受容体の血糖調節への関与を検討した。LHへのquinpiroleの投与により血糖値は有意に上昇し、この作用はl-sulpirideの併用により抑制された。以上の結果より、LHのドパミンD<sub>2</sub>受容体の刺激は、副交感神経を介してインスリンの分泌抑制ならびに肝糖産生の亢進により血糖値を上昇させることが示唆された。

## 幼若期発症1型糖尿病モデルラットにおける脳血管透過性の評価

○西村 翼、恒岡 弥生、岡 淳一郎

東京理科大学 薬学部 薬理学研究室

糖尿病では、高血糖による血管障害が原因となり様々な合併症が発症する。中枢性の合併症として、不安やうつ等の精神障害や認知機能障害が報告されており、これらはQOLを著しく低下させる。また、脳血管障害が主な原因とされる脳血管性認知症も糖尿病患者で発症しやすいとされており、精神神経疾患と糖尿病の間には関連性があるといえる。我々はこれまでに幼若期発症1型糖尿病ラット（JDM）を用いて、行動試験および電気生理学的手法により認知機能障害のメカニズムを検討してきた。その結果、JDMでは空間作業記憶が障害されていた。さらに、思春期発症1型糖尿病ラット（DM）でも認知機能障害が惹起されることが報告されているが、当研究室で行ったJDMおよびDMの比較では、両者の電気生理学的パラメータに差異がみられたため、発症時期の違いにより別々の機序で認知機能が低下したと推測される。

近年、脳血管障害と精神疾患との関連性が報告された。中枢神経系と脳血管は、血管内皮細胞、ペリサイト、アストロサイトからなる血液脳関門により物質交換が強固に制限されている。上述のJDMでの機能異常は、血液脳関門が高血糖によって破綻することで惹起されている可能性が考えられる。そこで本研究では、JDMの脳血管透過性を評価することを目的とした。モデルは両性Wistar/ST系ラット（17日齢）にstreptozotocin（85 mg/kg）を腹腔内投与して作製した。透過性の評価は麻酔下ラットに蛍光色素を尾静脈投与し、血漿含有量に対する脳実質への色素の取り込み率の比較により行った。また、血管内皮細胞やアストロサイトを免疫蛍光染色により可視化し、control群とJDM群で比較観察を行なった。その結果、JDMでは、蛍光色素取り込み率が有意に増加し、血管透過性が亢進していることが示された。以上より、JDMでは脳血管透過性が上昇し、認知機能障害のリスクファクターとなっている可能性が考えられる。

## P-2-4

### 5/6腎摘慢性腎不全モデルマウスの海馬におけるストレス関連因子の発現変化

下村 晃子、長田 暢弘、小菅 康弘、石毛久美子、伊藤 芳久

日本大・薬・薬理

【目的】近年、本邦の透析患者の9.8%に認知機能障害が認められることが報告され、慢性腎臓病 (chronic kidney disease; CKD) が認知機能低下の危険因子となることが明らかにされつつある。これまで、CKD患者の認知機能障害の発症には、尿毒症物質による酸化ストレスの関与が指摘されているものの、その詳細なメカニズムは明らかとなっていない。そこで、本研究ではCKDモデルの1つである5/6腎摘慢性腎不全モデルマウスを用いて、学習・記憶に重要な役割を果たす海馬におけるストレス関連因子の発現変化を検討した。

【方法】実験にはC57BL/6雄性マウスを用い、8週齢時に左腎臓の2/3を摘出し、9週齢時に右腎臓を全摘出した。偽処置マウスには、皮膚及び筋肉の切開のみを行った。腎不全の重症度は尿素窒素 (BUN) の値から判断した。タンパク質の発現レベルは、Western blot法を用いて検討した。

【結果・考察】術後のBUN値が60~69 mg/dLを軽度CKD群 (mCKD)、70 mg/dL以上を重度CKD群 (sCKD) とし、偽処置マウス群 (Cont) とともに解析を行った。既報において記憶障害が生じると報告されている腎摘8週間後の体重および収縮期血圧には、顕著な変化は認められなかった。小胞体ストレスのマーカーであるglucose-regulated protein 78の海馬における発現レベルは、sCKDにおいて、ContおよびmCKDと比較し有意に増加した。しかし、小胞体ストレス依存性細胞死に関与するC/EBP homologous protein (CHOP) レベルの上昇やcaspase-12の活性化は認められなかった。また、酸化ストレスのマーカーである4-hydroxynonenal (HNE) 付加タンパク質の発現レベルは、sCKDにおいて有意に増加した。一方、シナプスマーカーであるPSD95、SNAP25、synaptophysinの発現レベルには、いずれの群でも顕著な変化は認められなかった。以上の結果より、CKDモデルマウスの海馬では、酸化ストレスだけでなく小胞体ストレスが誘導されていることが示唆された。

## 安静睡眠時ラットにおけるグリシン受容体機構の検討

井出令奈<sup>1</sup> 安達一典<sup>2</sup> 渡部 茂<sup>1</sup> 坂上 宏<sup>2</sup>

1) 明海大学歯学部 形態機能成育学講座 口腔小児歯科学分野 2) 明海大学歯学部 病態診断治療学講座 薬理学分野

【目的】我々は、睡眠時のラットの顎運動機能がグリシン神経機構を介した調節を受けている可能性を報告してきた。本研究では、安静睡眠時の刺激応答性変化に関わるグリシンの中枢作用部位の検討を行った。

【材料および方法】イソフルラン全身麻酔下のSD系雄性ラット（約5.5週齢）に心電図、筋電図（顎二腹筋前腹と咬筋）、脳波、眼電図記録用電極と刺激用電極（オトガイ舌筋）を留置した。さらに、両側三叉神経運動核顎二腹筋領域に薬物投与用ガイドカニューレを埋入した。約2週間の回復期間と馴化の後、観察を行った。安静覚醒（quiet awake：QW）時にオトガイ舌筋に電気刺激（200  $\mu$ s、0.2 Hz、5回）を加え、顎二腹筋活動を3/5以上発現させる刺激強度を開口反射誘発閾値（TH）とし、5分間隔で3回計測した（QWB）。続いて、睡眠潜時の測定ならびに安静睡眠時（quiet sleep：QS）とその後の安静覚醒（QWA）時のTHを求めた。さらに、グリシン（0.1、0.2、0.4 M）もしくはsalineを両側三叉神経運動核顎二腹筋領域に投与（0.2  $\mu$ l / side）し同様の検討を行った。なお、QS時には、微小覚醒の発現回数も測定した。薬物投与部位は実験終了後に解剖学的に確認を行った。

【結果】Saline投与群で、投与前と同様にQS時の開口反射誘発閾値の有意な上昇を認めた。一方、グリシン投与群では、いずれの濃度においても安静睡眠時の開口反射誘発閾値が投与後の安静覚醒時と比較して有意（ $P < 0.05$ ）に低下した。また、グリシン投与は睡眠潜時を短縮する傾向を認めたが、微小覚醒の発現率や睡眠時脳波の徐波分布には影響を与えなかった。

【考察】三叉神経運動核顎二腹筋領域のグリシン受容体を活性化は、睡眠時の末梢刺激応答性を上昇させるが、睡眠の質の改善には積極的に関与していないことが示された。