

## 概要

平成11年度 (第4回)  
弘前大学医学部学術賞  
特別賞受賞研究課題

## 神経伝達物質遊離機構に及ぼすプリン受容体の相互作用

(Pharmacological Interaction between Purinoceptor Subtypes on Neurotransmitter Release)

弘前大学医学部神経精神医学講座  
岡田元宏

## 背景及び実験方法

生命活動維持に関与する生化学的反応の多くに主体的役割を果たしているアデノシン (AD) の神経筋接合部における神経伝達抑制作用を、1972年に Ginsborg と Hirst が報告した。その後、AD 及びアデノシン 3 磷酸 (ATP) の神経伝達に対する薬理活性の詳細が研究され、現在この両者は主要非ペプチド系神経伝達修飾物質として認知されている。シナプス間隙に存在する AD、ATP はプリン受容体に結合することで機能を発現するが、AD 高親和性  $P_1$  受容体、ATP 高親和性  $P_2$  受容体の存在が確認され、1980年代後半には特異的結合物質の開発が進められ薬理学的分類としてまとめられた。しかし、1990年以降、分子生物学的手法によるプリン受容体の遺伝子発見が相次ぎ、薬理学的分類だけでは分子生物学的研究結果を十分に説明することが困難となった。1996年にこの状況を打開する目的で、分子生物学的研究の業績を取り入れた分子生物学的プリン受容体分類が決定された。 $P_1$  受容体は、アデノシン受容体と改名、 $A_1$ 、 $A_{2A}$ 、 $A_{2B}$ 、 $A_3$  受容体に分類され、 $P_2$  受容体は、イオンチャネル内蔵型の  $P2X$  受容体群 ( $P2X_1$ - $P2X_7$ ) と G 蛋白共役型の  $P2Y$  受容体群 ( $P2Y_1$ - $P2Y_8$ ) に再分類された。この薬理学的分類から分子生物学的分類への移行は、結果的にはプリン受容体機能検討上の様々な混乱を生じた。さらに従来機能検討結果の問題点をも再認識させた。即ち、プリン受容体機能調整が痙攣性障害、不安障害、感情障害、虚血性障害、疼痛性障害、パーキンソン症候群等の中枢神経系疾患の新たな薬物治療法として10年以上開発が試みられたにもかかわらず未だに成功していない。一方、抗てんかん作用、情動安定化作用、鎮痛効果を有する carbamazepine (CBZ) の臨床効果発現機序として、AD 受容体能に関与する可能性が指摘され、盛んに検討されたものの、CBZ は  $A_1$  受容体に結合するが作動薬か阻害薬かさえも明確にできない状態が続いた。以上の如く、神経伝達物質遊離機構に対するプリン受容体機能発現機序を解明することが、プリン受容体機能を介した新たな抗てんかん薬、情動安定化薬開発には不可欠であり、以下の研究計画を進めた。

- 1) 神経伝達物質遊離機構の解明。
- 2) 神経伝達物質遊離機構に対するプリン受容体の効果発現機序の検討。
- 3) CBZ とプリン受容体の神経伝達物質遊離に対する相互作用。

ラット海馬にはプリン受容体が高密度にしかも多種分布しており、またてんかん、感情障害に関与する serotonin (5-HT) 系ニューロンも分布していることから、in vivo microdialysis を用い細胞間隙に存在する 5-HT を回収し、ECD-HPLC を用いて 5-HT 濃度を測定した。

## 結果および考察

### 1) 海馬 5-HT 遊離機構

興奮膜の電位変化を感受した電位依存性  $\text{Ca}^{2+}$  チャネル (VSCC) が開口し、シナプス前終末活性帯への  $\text{Ca}^{2+}$  流入により、シナプス蛋白 (SNAREs) 複合体の形成一分離が生じ、シナプス小胞と細胞膜の融合後、神経伝達物質遊離 (開口分泌) されるとする “SNARE 仮説” が一般的に受け入れられている。5-HT 遊離は、N-type VSCC (N-VSCC), protein kinase C (PKC), syntaxin (St) 活性に規定された経路 (N/C/St) と P-VSCC, PKA, synaptobrevin (Sb) に規定された経路 (P/A/Sb) による遊離機構を有していた<sup>2)</sup>。5-HT 基礎遊離は N/C/St が主要経路、P/A/Sb が副経路として発現され、脱分極性遊離は逆に P/A/Sb が主要経路、N/C/St が副経路として規定していた。

### 2) 海馬 5-HT 遊離に対するプリン受容体の効果

$A_1$  受容体は 5-HT 基礎遊離を抑制し、 $A_{2A}$ ,  $A_{2B}$ ,  $A_3$  受容体は効果がなかったが、 $A_1$  受容体抑制状態では、5-HT 基礎遊離を  $A_{2A}$  受容体は軽度増加、 $A_{2B}$  受容体は増加、 $A_3$  受容体は軽度減少した。 $A_1$  受容体は N/C/St, P/A/Sb 両経路を抑制し、 $A_2$  受容体は P/A/Sb を亢進し、 $A_3$  受容体は 5-HT 再取り込み活性を亢進していた<sup>1,4)</sup>。 $A_1$  受容体の PKA 抑制が、 $A_2$  受容体の 5-HT 遊離亢進作用を阻害していた。一方、脱分極性 5-HT 遊離に対して  $A_1$  受容体は抑制、 $A_2$  受容体は亢進した。脱分極自体が PKA 活性を亢進し、脱分極性 5-HT 遊離が増強される可能性が高く、 $A_1$ ,  $A_2$  受容体は脱分極性 5-HT 遊離を P/A/Sb, N/C/St の活性を介して遊離調整を行うものと考えられる。ATP は 5-HT 基礎遊離を一過性に増加し、その後抑制に転じた。初期増加は P2X 受容体機能阻害により抑制された。後期遊離抑制は  $A_1$  受容体機能阻害により消失し、逆に後期増加が生じた。 $A_2$  受容体機能阻害は  $A_1$  受容体機能阻害時の ATP 誘発性後期増加を抑制した。以上より、シナプス間隙に遊離された ATP は P2 受容体に結合し、5-HT 遊離を亢進し、その後速やかに AD へ代謝され AD 受容体に作用する動態を有する可能性が示唆された<sup>5)</sup>。

### 3) CBZ とアデノシン受容体の神経伝達物質遊離に対する相互作用

CBZ は海馬細胞外 5-HT 遊離を増加し、 $A_1$  受容体の 5-HT 遊離減少を抑制した。 $A_1$  受容体機能抑制状態でも CBZ は 5-HT 基礎遊離を亢進し、 $A_2$  受容体阻害薬の遊離減少を抑制した。CBZ の前処置は、 $A_2$  受容体作動薬の遊離増加を発現した。一方、細胞外  $\text{Mg}^{2+}$  が各種受容体の立体構造の維持に重要な役割を果たすが、 $\text{Mg}^{2+}$  濃度を 1-10 mM に増加した場合、 $A_1$  および  $A_2$  受容体作動薬の 5-HT 遊離に対する効果は  $\text{Mg}^{2+}$  濃度依存性に増強され、逆に阻害薬の効果は  $\text{Mg}^{2+}$  濃度依存性に抑制された。CBZ の 5-HT 遊離増加作用は  $\text{Mg}^{2+}$  濃度依存性に抑制され、 $A_1$  受容体阻害時の CBZ の遊離増加作用は  $\text{Mg}^{2+}$  濃度依存性に増強された。以上より CBZ は  $A_1$  受容体阻害、 $A_2$  受容体作動性効果を有するものと考えられた<sup>3)</sup>。

## おわりに

これまでの研究結果をまとめたが、プリン受容体機能解析研究では常に各種受容体の選択的作動薬・阻害薬開発が遅れ、特に  $A_{2B}$ , P2X, P2Y 受容体ファミリーの選択的作動薬・阻害薬は未開発であり、機能解析が進められない。今後の中枢神経系を対象にした研究では、遺伝子レベルの機能解析を基礎にし、後天的に獲得されるニューロンネットワークを基盤とした神経伝達系機能の相互作用が最後に残された black box として主題になる。即ち、遺伝子連鎖解析、ポシショナルクローニングで得られた遺伝情報を、ノックダウン、トランスジェニック技術を用い機能解析を進め、最終的には古典的薬理学的的手法を用いた研究で “創薬” を達成する、一連の研究計画を立案・実施する必要に迫られている。

## 謝 辞

研究実施に当たり、モノアミン高感度分析にご協力いただいた、Masis INC. 相馬学氏、及び研究を直接ご指導していただいた神経精神医学講座・兼子直教授に深く感謝致します。

## 参 考 文 献

- 1) Okada M, Kawata Y, kiryu K, Mizuno K, Wada K, Tasaki H, Kaneko S. Effects of adenosine receptor subtypes on hippocampal extracellular serotonin level and serotonin reuptake activity. *J Neurochem* 1997 ; 69 : 2581-8.
- 2) Okada M, Wada K, Kiryu K, Kawata Y, Mizuno K, Kondo T, Tasaki H, Kaneko S. Effects of Ca<sup>2+</sup> channel antagonists on striatal dopamine and DOPA release, studied by in vivo microdialysis. *Br J Pharmacol* 1998 ; 123 : 805-14.
- 3) Okada M, Kaneko S. Pharmacological interactions between magnesium ion and adenosine on monoaminergic system in the central nervous system. *Magnes Res* 1998 ; 11 : 289-305.
- 4) Okada M, Kawata Y, Murakami T, Wada K, Mizuno K, Kondo T, Kaneko S. Differential effects of adenosine receptor subtypes on release and reuptake of hippocampal serotonin. *Eur J Neurosci* 1999 ; 11 : 1-9.
- 5) Okada M, Kawata Y, Murakami T, Wada K, Mizuno K, Kaneko S. Interaction between purinoceptor subtypes on hippocampal serotonergic transmission using in vivo microdialysis. *Neuropharmacology* 1999 ; 38 : 707-15.