

氏名	越智 拓
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	乙第568号
学位授与の日付	2022年9月29日
学位論文題名	Dopamine enhances the glial endocannabinoid signaling 「ドーパミンはグリア細胞の内因性カンナビノイドシグナリングを強化する」 Medical Mass Spectrometry. 2021:5:2-10
指導教授	磯部 一郎
論文審査委員	主査 教授 長崎 弘 副査 教授 下野 洋平 教授 大槻 眞嗣

論文内容の要旨

【緒言】

法医解剖では病理学的所見に乏しい突然死等を少なからず経験する。このような病態生理には、内因性カンナビノイドシステム(ECS)などの生体システムの破綻が関与している可能性が考えられる。ECSは、内因性カンナビノイド(EC)と、それらが作用する受容体、ECの合成と分解に関与する酵素によって構成される。このシステムは全身組織に広く存在し、様々な生理機能の調節に関与しており、中枢神経系では、ECはシナプス逆行性に作用することでシナプス間のシグナル伝達を抑制することが知られている。このようなシナプスにはグリア細胞も存在し、特にアストロサイトは、シナプスを構成するニューロンとともに三者間シナプスを形成し、シナプスの機能調節に積極的に関与している。

【目的】

私たちの教室では、これまでにいくつかの生体システムに対する様々なファクターの影響について、主に細胞培養モデル系で検討してきた。本研究では中枢神経系における種々の条件によるECSの変動を検索することを目的として、神経伝達物質によるグリア細胞のECS関連遺伝子の発現とECの産生の変化を検討した。

【方法】

アストロサイトのモデルとして、ラットグリオーマ細胞株であるC6細胞を用いた。これらの細胞に対し、各種神経伝達物質(ドーパミン(DA)、グルタミン酸(Glu)、 γ -アミノ酪酸(GABA))を作用させ、ECS関連因子の転写レベルの変化をリアルタイムPCRにて確認した。また、神経伝達物質作用後のC6細胞におけるEC産生量を質量分析にて確認した。

【結果】

C6細胞にDAを作用させた場合、濃度依存的にECの1つである2-arachidonylglycerol(2-AG)の合成酵素phospholipase C beta 4(PLC β 4)の発現上昇と分解酵素monoacylglycerol lipase(MGLL)の発現低下が認められた。一方、GluおよびGABAを作用させた場合、ECS関連因子の発現に有意な変化を認めなかった。また、DA受容体選択的アゴニストを用いた実験では、D1様受容体選択的アゴニストであるSKF38393により、DAと同様の遺伝子発現変化が誘導された。さらに、DA作用後のC6細胞における2-AG産生量は、DAを48時間以上作用させた場合に有意に上昇した。

【考察】

今回の研究でC6細胞をDAで処理するとPLC β 4の発現上昇とMGLLの発現低下が誘導され、さらにDA刺激を継続するとC6細胞による2-AG産生量が上昇することが明らかとなった。通常、神経終末から放出された神経伝達物質は、その標的受容体に作用した後、ニューロンあるいは隣接するグリア細胞に取り込まれることで、シナプス間隙から速やかに除去される。しかし、覚醒剤などの依存性薬物の濫用者では、神経終末からのDA放出が促進されるとともに、その再取り込みが阻害されることで、シナプス間隙におけるDA濃度が増加する。このような脳内でのDA濃度が異常に増加するような病態では、ECS機能に変調を来した結果、生体の恒常性が破綻することで、比較的軽微なストレスや常用量の薬剤服用などにより意識レベルや循環機能の調節に無視できない影響を与える可能性が考えられる。本研究で認められた結果は、株化細胞を用いた培養実験系で得られたものであり、直接に何らかの病態との関連を示すものではないが、今後は使用する細胞の種類を広げ、培養条件設定に工夫を凝らすことなどにより、ECSの重篤な病態との関連性についてさらに検討していきたい。

論文審査結果の要旨

薬物濫用者をはじめとした法医解剖では時として病理学的所見に乏しい突然死を経験する。申請者は、内因性カンナビノイドシステムを含む生体システムの破綻がその原因に関与しているという仮説を検証するため、培養細胞モデル系を用いて各種の神経伝達物質によるグリア細胞のECS関連遺伝子の発現と内因性カンナビノイドの産生の変化を検討した。中枢神経系においてECはシナプス前後のニューロンおよびアストロサイトが形成する三者間シナプスにおいてシグナル伝達の機能調節に関与している。主論文では中枢神経系における種々の条件によるECSの変動を検索することを目的として神経伝達物質によるグリア細胞のECS関連遺伝子の発現とECの産生の変化を検討した。アストロサイトのモデルであるC6細胞においてドーパミンはD1受容体選択的に2-AGの合成酵素PLC β 4の発現上昇と分解酵素MGLLの発現低下および2-AG産生を促進することを明らかにした。上記内容に対して薬物濫用者のシナプスにおける慢性的なDA放出促進および再取り込み阻害がECSに及ぼす影響について質問があり、シナプス伝達の過負荷を保護的に調節するECS機能に変調を来して生体の恒常性が破綻する可能性が説明された。

本研究は中枢神経機能におけるECSの理解に貢献するものであり、学位論文として十分な質を持つものと評価された。