

氏名	深草 亜由美		
学位の種類	博 士 (生物科学)		
学位記番号	博 甲 第 9048 号		
学位授与年月日	平成 31年 3月 25日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	Contribution of Tissue Plasminogen Activator on the Methamphetamine-induced Modulation of Dopamine Neuron Focused on Sensitization and Neurotoxicity (逆耐性と神経毒性に着目したメタンフェタミン誘発ドパミン神経の調節における組織プラスミノゲン活性化因子の寄与)		
主査	筑波大学准教授	博士 (理学)	桑山 秀一
副査	筑波大学教授	学術博士	橋本 哲男
副査	筑波大学准教授	理学博士	坂本 和一
副査	筑波大学准教授	博士 (理学)	中野 賢太郎

論 文 の 要 旨

乱用薬物摂取による依存性形成は世界的に大きな問題の一つである。特に覚せい剤はその精神依存性の強さから、幻覚・妄想などを主訴とする覚せい剤精神病を発症することが知られており、一度摂取すると繰り返し渴望し抜け出すことが難しい点の特徴である。薬物の生体内における分子作用機構を知ることは、覚せい剤精神病の病態の理解および新規治療薬創出の糸口となる可能性があり、薬物乱用の解決への可能性が期待される。覚せい剤の一種であるメタンフェタミンは、主にドパミン作動性神経の神経終末においてシナプス間隙のドパミン濃度を増加させ、ドパミン受容体を刺激することにより強い中枢神経興奮作用を示す。実験動物では、メタンフェタミン投与によって行動量やドパミン遊離量が増大し、同量のメタンフェタミンの連続投与によってその程度が増悪することが知られている（逆耐性現象）。また、ある一定量以上のメタンフェタミン投与では、ドパミン神経そのものにダメージを与えドパミン含量やドパミン合成酵素が低下することが知られている（神経毒性）。これらの現象は覚せい剤の依存性や毒性を理解し、治療法を開発するためのモデル系として有用である。一方、tissue plasminogen activator (tPA)-plasmin 系は血液線溶系において重要な役割を担っており、生体維持のため必要不可欠なシステムとして知られている。tPA および plasmin は脳内にも多く存在し、記憶の形成やシナプス可塑性などさまざまな中枢神経系における生理作用に重要であることが報告されている。

第一章で本論文の著者は、メタンフェタミンによるドパミン遊離の逆耐性現象の分子メカニズム解析について述べる。メタンフェタミンの連続投与によって、野生型マウスの行動量はしだいに増大すること、および、脳内の tPA 活性が増加することが報告されている。また、メタンフェタミンによる行動量の増大には、側坐核という依存性形成に重要な役割を担う脳部位におけるドパミン遊離が大きく関与することが知られている。そこで著者は、側坐核におけるドパミン遊離の逆耐性現象に対する tPA-plasmin 系の関与と下流シグナルについて研究を行った。tPA 遺伝子欠損マウスと野生型マウスにメタンフェタミン (1 mg/kg 皮下投与) を単回投与および連続投与して側坐核におけるドパミン遊離量を測定したところ、野生型マウスでのみ逆耐性現象が確認された。つまり、メタンフェタミンによるドパミン遊離の逆耐性現象に tPA が関与していることを見出した。野生型マウスの側坐核への tPA 微量注入あるいは plasmin 微量注入によって、メタンフェタミン単回

投与によるドパミン遊離が増大することからも、tPA-plasmin 系によってドパミン遊離の逆耐性が調節されることが示唆された。さらに下流のシグナル解析として、plasmin によって活性化される protease activated receptor-1 (PAR-1)の関与について PAR-1 遺伝子欠損マウスを用いて調べたところ、野生型マウスおよび PAR-1 遺伝子欠損マウス共にドパミン遊離量が同程度増大したことから、PAR-1 の関与は低いことが示された。次に別の下流シグナルとして、細胞外マトリクスの1つであり、plasmin によって分解されることが知られている laminin の関与を調べた。脳組織と tPA-plasmin 系分子をインキュベーションして laminin を検出した結果、および、plasmin を野生型マウスの側坐核に微量注入して laminin の免疫染色を行った結果から、tPA-plasmin 系によるドパミン遊離の逆耐性の分子メカニズムの一つとして、laminin の分解が関与している可能性が示された。以上の結果は、メタンフェタミンのドパミン遊離における逆耐性現象の分子メカニズムの一端を明らかにするものであった。

第二章で本論文の著者は、メタンフェタミンによるドパミン神経に対する神経毒性のメカニズム解析について述べる。第一章の結果より本毒性に対する tPA の関与を考え、tPA 遺伝子欠損マウスおよび PAR-1 遺伝子欠損マウスに高用量のメタンフェタミン (4 mg/kg) を頻回投与 (2 時間おきに 4 回) してその効果を検証したところ、ドパミン合成酵素量およびドパミントランスポーター量の低下で検出されるドパミン神経の障害は、野生型マウスと同様に検出された。また、過剰用量のメタンフェタミンによる全身作用の一つである体温低下についても、tPA 遺伝子欠損マウスおよび PAR-1 遺伝子欠損マウスは野生型マウスと同程度の低下を示した。これらの結果は、メタンフェタミンによるドパミン神経毒性に tPA および PAR-1 は関与していないことを示唆した。以上の結果は、第一章の結果から推定されたメタンフェタミンのドパミン神経毒性の分子メカニズムと異なるものであり、大変興味深い知見であった。

以上本研究において本論文の著者は、メタンフェタミンのドパミン神経に対する作用を、逆耐性現象および神経毒性の 2 つの側面から tPA に着目して解析し、覚せい剤の依存性や毒性の病態に関与する重要な生体調節機構の一端を提唱した。主に血管内で血液線溶系において重要な役割を担っている tPA 分子が覚せい剤によるドパミン遊離の逆耐性メカニズムの一つであるという事実は大変興味深く、今後覚せい剤精神病のさらなる病態理解および新規治療薬創出につながることを期待される。また、逆耐性現象は統合失調症陽性症状の病態表出の様相と類似することから、覚せい剤精神病だけでなく、統合失調症の病態理解や新規治療薬創出にも発展できる可能性をもつことが考えられる。さらに、科学的に大変興味深い点として、同じ神経系に対する同じ薬物の作用にも関わらず、逆耐性現象に関与する tPA は神経毒性の側面には関与しないことが挙げられる。神経毒性のメカニズム解析は道半ばではあるが、それぞれの作用を別々に制御する生体機能の存在の可能性が示されたことは、生物科学的な観点から非常に意義のある事象であり、今後のさらなる発展が期待される。

審 査 の 要 旨

本論文において深草亜由美氏は、覚せい剤等の薬物乱用による逆耐性現象についてドパミン遊離の逆耐性現象に tPA が関与していること、PAR-1 遺伝子産物の関与は低いこと、laminin の分解が関与している可能性があることを明らかにした。さらに、神経毒性について、メタンフェタミンによるドパミン神経毒性に tPA および PAR-1 は関与していないこと、メタンフェタミンのドパミン神経毒性の分子メカニズムと異なるものであることを明らかにした。これらの知見は、薬物乱用における生物学的な観点においても非常に意義のあるものになることが期待される。以上より本論文における研究成果は、学術的にも応用的にも非常に価値の高いものであると判断された。

平成31年1月28日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（生物科学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。