

特集 1 ドパミン研究の最近の展開

4. δ または μ オピオイド受容体を介した側坐核の
ドパミン神経活動促進への同部位の GABA 神経の関与

三枝 禎*

抄録：麻薬性鎮痛薬への精神依存の形成には中脳辺縁系ドパミン (DA) 神経活動の亢進がかかわると考えられている。中脳辺縁系 DA 神経が投射する側坐核には DA 神経と相互作用をする GABA 神経が認められる。本稿では無麻酔非拘束ラットを用いた *in vivo* 脳微小透析実験で筆者らが得た知見に基づき、麻薬性鎮痛薬の作用点である opioid 受容体サブタイプのうち側坐核に分布する δ および μ 受容体の刺激による同部位の DA 放出の促進への GABA 神経機構の関与について述べた。はじめに GABA 受容体サブタイプの GABA_A または GABA_B 受容体を介した内因性 GABA による側坐核の DA 放出の抑制機構について考察した。側坐核には δ または μ 受容体の発現した GABA 神経が分布するため、 δ または μ 受容体を介した DA 放出の増加には DA 神経終末上の GABA_A または GABA_B 受容体への GABA 入力の低下がかかわることが考えられる。このため δ または μ 受容体のサブタイプを介した DA 放出の促進へ GABA_A または GABA_B 受容体 ligand が及ぼす効果から、側坐核の δ または μ 受容体、GABA 受容体、DA 神経の相互作用についてモデルを用いて説明した。

日本生物学的精神医学会誌 33 (3) : 112-116, 2022

Key words : nucleus accumbens, dopamine, GABA, opioid receptor, GABA receptor

はじめに

opioid 受容体を刺激する薬物には、強力な鎮痛作用を示す麻薬性鎮痛薬が含まれている。この opioid 受容体のサブタイプのうちデルタ (δ) もしくはミュー (μ) 受容体の agonist による刺激で、中脳辺縁系ドパミン (DA) 神経の主たる投射領域のひとつである側坐核の DA 神経活動は促進する。この脳内 DA 神経活動の賦活化は、麻薬性鎮痛薬への精神依存の形成にかかわると考えられている。

一般に神経活動に対して抑制的に働くはずの δ , μ 受容体だが、これらの受容体の刺激により脳内の DA 神経活動が高まるメカニズムは、DA 神経を抑制している神経の抑制 (脱抑制) の面から説明されている。すなわち側坐核における DA 神経活動の促進には、中脳辺縁系 DA 神経系の起始核である中脳腹側被蓋野で DA 神経を抑制している GABA 介在神経に分布する δ , μ 受容体の刺激に伴う GABA 神経の抑制がかかわると想定されている³⁾。一方、実

験動物を用いた基礎研究から側坐核の DA 神経活動は同部位の GABA 神経により抑制的に制御されることと^{2, 5)}、この領域では GABA をはじめとする抑制性の神経伝達物質を含有した神経細胞に δ または μ 受容体が分布することが知られている^{10, 11)}。無麻酔非拘束ラットの側坐核へ δ もしくは μ 受容体の agonist を局所灌流投与すると同部位で細胞外への DA 放出が促進するが、このことは中脳腹側被蓋野ばかりでなく側坐核の δ または μ 受容体の刺激により DA 神経を抑制する GABA 神経の脱抑制が起こり、同部位の DA 神経活動が促進する可能性を示唆するものである⁷⁾。GABA が作用する GABA 受容体には GABA_A, GABA_B 受容体のサブタイプが知られており、側坐核に分布するこれらの受容体は同部位の DA 放出を抑制的に制御する。つまり、側坐核の δ もしくは μ 受容体の刺激によりこれらの受容体の発現している GABA 神経からの GABA の DA 神経終末に局在する GABA_A または GABA_B 受容体への刺激が低下し、脱抑制により DA 放出が促進するこ

Involvement of GABAergic neural mechanisms in the nucleus accumbens in delta- and mu-opioid receptor-mediated increases in accumbal dopamine efflux

* 日本大学松戸歯学部薬理学講座 (〒 271-8587 千葉県松戸市栄町西 2-870-1) Tadashi Saigusa : Department of Pharmacology, Nihon University School of Dentistry at Matsudo. 2-870-1 Sakaecho-Nishi, Matsudo, Chiba 271-8587, Japan

【三枝 禎 E-mail : saigusa.tadashi@nihon-u.ac.jp】

とが考えられる。しかし、 δ と μ 受容体 agonist の投与は、側坐核においてどの GABA 受容体サブタイプへの入力低下を介して同部位の DA 放出を促進するのかが明らかでなかった。本稿では、無麻酔非拘束ラットを用いた *in vivo* 脳微小透析実験において示された、側坐核の δ もしくは μ 受容体のサブタイプの選択的な活性化が誘発した DA 放出の促進に対する GABA_A または GABA_B 受容体の agonist による刺激と antagonist による遮断が及ぼす効果と関連する報告を振り返り、側坐核の δ または μ 受容体の刺激により GABA_A, GABA_B 受容体のいずれの受容体への GABA 入力低下して DA 放出が促進したのか考察した。また、DA 放出を抑制する GABA 神経における δ と μ 受容体サブタイプの発現の特徴に関する考察を加えた。

δ 受容体は、薬理的に δ_1 , δ_2 の 2 種類のサブタイプに分類されている。また、 μ 受容体も antagonist の naloxonazine へ感受性を示す μ_1 と示さない μ_2 の 2 種類のサブタイプが知られており、側坐核では μ_2 ではなく μ_1 受容体刺激が DA 放出の促進には関与することが示されている⁴⁾。このため、側坐核の δ_1 , δ_2 , μ_1 受容体の刺激による DA 放出の促進機構に焦点を当てた。

1. 無麻酔非拘束ラットを用いた *in vivo* 脳微小透析法

本稿で取り上げた *in vivo* 脳微小透析法は、実験動物の脳内にあらかじめ留置した脳微小透析プローブ(プローブ)に改良リンゲル液をインフュージョンポンプにより 1~2 μ L/min で灌流し、プローブ先端の微小半透膜(直径約 200 μ m, 長さ 1~2 mm)を介して研究対象部位の細胞外液を試料として採取し、試料中に含まれる神経伝達物質やその代謝産物を High-performance liquid chromatography with electrochemical detection (HPLC-ECD) 法などで定量する方法である。試料は無麻酔非拘束の条件下で 5~20 分ごとに回収できる。微小半透膜を介し、灌流液に溶解した薬物の逆透析による脳内局所灌流投与も可能である。筆者らが採用している *in vivo* 脳微小透析法の実験条件下では、無麻酔非拘束ラットの側坐核から回収した試料中の DA のほとんどが電位依存性 Na⁺ チャンネル阻害薬の tetrodotoxin (TTX) の灌流投与により消失する⁹⁾。このことから検出された DA の大部分は神経活動依存性に細胞外へ遊離したものと考えられるため、側坐核から得た試料中の DA 量を指標として同部位の DA 神経終

末からの DA 放出の制御機構を検討してきた。下記の GABA 受容体サブタイプの ligand, δ または μ 受容体の ligand もそれぞれ側坐核へ灌流投与し、同部位に分布する各受容体が DA 放出制御において果たす役割について解析した。

2. 基礎的な DA 放出に対する GABA 受容体サブタイプの ligand の効果の特徴

側坐核の細胞外液から回収された基礎的な細胞外 DA 量は、同部位への GABA_A 受容体 antagonist の bicuculline の灌流投与により増大した。興味深いことに GABA_A 受容体 agonist の muscimol も側坐核へ灌流投与すると DA 放出が促進した。この muscimol の効果は、基礎 DA 放出に影響がない低用量の bicuculline の併用投与により強く抑制された²⁾。このことは muscimol が GABA_A 受容体の刺激を介して側坐核の DA 放出を促進することを示すものである。しかし、bicuculline (antagonist) と muscimol (agonist) が同じ DA 神経終末上の GABA_A 受容体を作用点としていたとは考え難い。筆者らは muscimol が DA 神経に入力する GABA 神経上の GABA_A 受容体を刺激することでこの GABA 神経が抑制され、DA 神経の脱抑制が起きて DA 放出が促進した可能性を考えている²⁾。

側坐核の DA 放出は、GABA_B 受容体 agonist の baclofen による目立った影響を受けないのに対し、GABA_B 受容体 antagonist の saclofen により増大した。また、baclofen 処置はこの saclofen による DA の増大を抑制する⁵⁾。内因性 GABA 合成にかかわるグルタミン酸脱炭酸酵素 (glutamic acid decarboxylase : GAD) を選択的に阻害する allylglycine の灌流投与も DA 放出の促進を誘発したが、この DA の増大も基礎的な DA 放出に影響を及ぼさない低用量の baclofen の併用投与が抑制した⁶⁾。

このように側坐核への GABA_A または GABA_B 受容体の agonist の灌流投与は同部位の DA 量を少なくとも減少させなかったのに対し、GAD 阻害薬のほか GABA_A または GABA_B 受容体の antagonist の側坐核への灌流投与はいずれも同部位の DA 量を増加させた。これらのことから、側坐核における基礎的な DA 放出は同部位の DA 神経終末上に分布すると想定される GABA_A および GABA_B 受容体を介して内因性の GABA により強く抑制されており、これら GABA 受容体サブタイプへの GABA 入力の低下は脱抑制により DA 放出を促進することが考えられる (図 1 (1))。

- (1) $GABA_{A/B}-R \downarrow \rightarrow DA \uparrow$
- (2) $\delta_1-R \uparrow \rightarrow DA \uparrow = \delta_1-R \uparrow \rightarrow GABA_B-R \downarrow \rightarrow DA \uparrow$
- (3) $\delta_2-R \uparrow \rightarrow DA \uparrow = \delta_2-R \uparrow \rightarrow GABA_{A/B}-R \downarrow \rightarrow DA \uparrow$
- (4) $\mu_1-R \uparrow \rightarrow DA \uparrow = \mu_1-R \uparrow \rightarrow GABA_{A/B}-R \downarrow \rightarrow DA \uparrow$

図1 側坐核の δ または μ 受容体サブタイプへの選択的な刺激が誘発すると想定される同部位のGABA受容体サブタイプへの入力低下とDA放出の促進

Rのあとの上向きの矢印は当該受容体の刺激と活性化、下向きの矢印は当該受容体への刺激の低下、DAのあとの上向きの矢印は放出促進を示す。

3. 側坐核の δ_1 , δ_2 , μ_1 受容体の刺激が誘発したDA放出に対するGABA受容体サブタイプのligandの効果の特徴

さて、allylglycineの灌流投与が誘発したDA放出の促進を抑制したbaclofen処置は、 δ_1 受容体agonistのDPDPE、 δ_2 受容体agonistのdeltorphin-IIによる δ_1 または δ_2 受容体の選択的刺激が誘発したDA放出の増加をいずれも強く抑制した。また、このbaclofenの抑制効果は基礎的なDA放出に影響を及ぼさない低用量のsaclofenの併用投与で打ち消された¹²⁾。すでに述べたとおり内因性 μ 受容体agonist候補物質のendomorphin-1 (EM-1)の側坐核への灌流投与が誘発した同部位のDA放出の促進を選択的 μ_1 受容体antagonistのnaloxonazineは強く抑制することから、側坐核の μ_1 受容体刺激は同部位のDA放出を促進することが示唆されてきた⁷⁾。このEM-1が誘発した側坐核のDA放出の増加は、baclofenの投与では目立った影響を受けなかったのに対しsaclofenの併用投与で促進した。このsaclofenの効果は基礎的なDA放出に影響を及ぼさない低用量のbaclofenの併用投与で打ち消された⁵⁾。つまり、 δ_1 , δ_2 受容体刺激による側坐核のDA放出はGABA_B受容体の活性化で抑制され、 μ_1 受容体刺激による側坐核のDA放出はGABA_B受容体の遮断で促進した。一方、muscimolの併用投与は、 δ_1 ではなく δ_2 受容体刺激が誘発したDA放出の増加を強く抑制した。このmuscimolの効果は基礎的なDA放出に影響を及ぼさない低用量のbicucullineの併用投与で打ち消された。これに対し μ_1 受容体刺激が誘発したDA放出の増加は、muscimolの併用投与で促進した。このmuscimolの効果は基礎的なDA放出に影響を及ぼさない低用量のbicucullineの併用投与で打ち消された¹⁾。つまりGABA_A受容体の活性化は、 δ_1 受容体刺激による側坐核のDA放出には目立った影響を及ぼさないが、 δ_2 受容体刺激

による側坐核のDA放出を抑制し、 μ_1 受容体刺激による側坐核のDA放出は促進した。

上述のとおり、側坐核のDA神経とGABA_AまたはGABA_B受容体を介して密接な機能的相互作用を示すGABA神経には、 δ または μ 受容体サブタイプの発現が報告されている^{10, 11)}。側坐核の δ_1 受容体刺激は同部位のDA放出を促進するが、このDA放出はGABA_AではなくGABA_B受容体刺激により抑制された。このことから δ_1 受容体の刺激によりDA神経終末上のGABA_B受容体へのGABAの入力の低下が起き脱抑制によりDA放出が促進したことが考えられる(図1(2))。側坐核のDA放出は δ_2 受容体刺激により促進するが δ_1 受容体刺激の場合とは異なり、GABA_BのみならずGABA_A受容体刺激でも抑制される。このことから δ_2 受容体の刺激によりDA神経終末上のGABA_AおよびGABA_B受容体へのGABAの入力の低下が起こり、脱抑制のためDA放出が促進したことが考えられる(図1(3))。これに対して、 μ_1 受容体刺激によるDA放出は、GABA_A受容体agonistのmuscimolまたはGABA_B受容体antagonistのsaclofenの投与により増大した。筆者らはこの μ_1 受容体刺激によるDA放出もGABA_AおよびGABA_B受容体への入力低下の面から説明できるのではないかと考えている(図1(4))。すなわち、GABA神経上に分布する μ_1 受容体の刺激の結果、DA神経終末のGABA_A受容体への入力がこの受容体へのmuscimolの刺激では打ち消し難いレベルまで強く抑制される(床効果)ほか、GABA神経に発現したGABA_A受容体がmuscimolで活性化され μ_1 受容体の刺激によるDA神経終末のGABA_A受容体への入力低下を促進させた可能性がある。また、GABA神経上の μ_1 受容体の刺激の結果起きたbaclofenでは打ち消せないほどのDA神経終末のGABA_B受容体へのGABA入力の低下を、saclofenによるこの受容体の遮断が促進したことが考えられる。

側坐核の δ_1 , δ_2 , μ_1 受容体刺激によるDA放出に対するGABA_AおよびGABA_B受容体系薬物の作用の中には明らかな方向性の違いが認められるものがあった。例えば、GABA_A受容体agonistのmuscimolは、 δ_1 受容体を介したDA放出促進には目立った影響は及ぼさないのに対し δ_2 受容体を介したDA放出促進を抑制し、 μ_1 受容体を介したDA放出は促進した。また、GABA_B受容体antagonistのsaclofenは δ_1 , δ_2 受容体を介したDA放出には目立った影響は及ぼさないのに対し、 μ_1 受容体を介したDA放出を促進した。筆者らは、これらの結果から側坐核の

DA 神経に入力している GABA 神経における δ_1 , δ_2 , μ_1 受容体の発現は異なっており, 少なくともこれら受容体のすべてが同じ GABA 神経には発現していなかった可能性を考えている。また, 上記の δ または μ 受容体サブタイプの選択的刺激により内因性 GABA による刺激が低下する DA 神経上の GABA 受容体サブタイプも異なることも推察される (図 1 (2) ~ (4))。

側坐核の DA 神経活動を抑制する同部位の GABA 神経にどのように δ_1 , δ_2 , μ_1 受容体が発現し, これらの GABA 神経の GABA_A または GABA_B 受容体を介した DA 神経終末への入力とその強さ (トーンズ) の δ または μ 受容体刺激に伴う変化にはどのような特徴があると考えられるかについては, 筆者らの別の総説論文⁸⁾ をご覧いただきたい。

おわりに

本報告で取り上げた δ_1 , δ_2 , μ_1 受容体 agonist の側坐核への灌流投与が誘発した同部位の細胞外 DA 量の増大は, 電位依存性 Na⁺ チャネル阻害薬の TTX のほか各受容体の選択的な antagonist で打ち消される。*in vivo* 脳微小透析法を用いた基礎研究からは, δ または μ 受容体サブタイプを選択的に刺激可能とされている agonist でも側坐核へ局所灌流投与すると TTX 非感受性のメカニズムや opioid 受容体の非選択的 antagonist の naloxone 非感受性のメカニズムで同部位の細胞外 DA 放出を促進することが示されていることには注意が必要である⁷⁾。

本稿では, 主に無麻酔非拘束ラットを用いた *in vivo* 脳微小透析法で得られた知見に基づいて, 側坐核における δ または μ 受容体のサブタイプの選択的刺激による DA 神経活動の促進機構について同部位の GABA 受容体サブタイプの関与の面から紹介した。本論文が opioid の側坐核の DA 神経活動への作用機構のほか, 側坐核以外の脳内の DA 神経活動の GABA 神経による制御機構の解明のヒントになれば幸いである。

本論文に記載した筆者らの基礎研究は, 所属機関の動物実験委員会で承認のうえ倫理的配慮のもとで実施したものである。開示すべき利益相反は存在しない。

謝辞

本研究の一部は, 科研費 (代表者 三枝禎: 基盤 C 17K11858) と中富健康科学振興財団国際交流助成金による支援を得て行われた。

文 献

- 1) Aono Y, Kiguchi Y, Watanabe Y, et al (2017) Stimulation of accumbal GABA_A receptors inhibits delta2-, but not delta1-, opioid receptor-mediated dopamine efflux in the nucleus accumbens of freely moving rats. *Eur J Pharmacol*, 815 : 18-25.
- 2) Aono Y, Saigusa T, Mizoguchi N, et al (2008) Role of GABA A receptors in the endomorphin-1-, but not endomorphin-2-, induced dopamine efflux in the nucleus accumbens of freely moving rats. *Eur J Pharmacol*, 580 : 87-94.
- 3) Fields HL and Margolis EB (2015) Understanding opioid reward. *Trends Neurosci*, 38 : 217-225.
- 4) Okutsu H, Watanabe S, Takahashi I, et al (2006) Endomorphin-2 and endomorphin-1 promote the extracellular amount of accumbal dopamine via nonopioid and mu-opioid receptors, respectively. *Neuropsychopharmacology*, 31 : 375-383.
- 5) Saigusa T, Aono Y, Mizoguchi N, et al (2008) Role of GABA B receptors in the endomorphin-1-, but not endomorphin-2-, induced dopamine efflux in the nucleus accumbens of freely moving rats. *Eur J Pharmacol*, 581 : 276-282.
- 6) Saigusa T, Aono Y, Sekino R, et al (2012) In vivo neurochemical evidence that newly synthesised GABA activates GABA (B), but not GABA (A), receptors on dopaminergic nerve endings in the nucleus accumbens of freely moving rats. *Neuropharmacology*, 62 : 907-913.
- 7) Saigusa T, Aono Y and Waddington JL (2017) Mechanisms underlying δ - and μ -opioid receptor agonist-induced increases in extracellular dopamine level in the nucleus accumbens of freely moving rats. *J Oral Sci*, 59 : 195-200.
- 8) Saigusa T, Aono Y and Waddington JL (2021) Integrative opioid-GABAergic neuronal mechanisms regulating dopamine efflux in the nucleus accumbens of freely moving animals. *Pharmacol Rep*, 73 : 971-983.
- 9) Saigusa T, Fusa K, Okutsu H, et al (2001) Monitoring of extracellular dopamine levels in the dorsal striatum and the nucleus accumbens with 5-minute on-line microdialysis in freely moving rats. *J Oral Sci*, 43 : 129-134.
- 10) Svingos AL, Clarke CL and Pickel VM (1998) Cellular sites for activation of delta-opioid receptors in the rat nucleus accumbens shell : relationship with Met

- 5-enkephalin. J Neurosci, 18 : 1923-1933.
- 11) Svingos AL, Moriwaki A, Wang JB, et al (1997) mu-Opioid receptors are localized to extrasynaptic plasma membranes of GABAergic neurons and their targets in the rat nucleus accumbens. J Neurosci, 17 : 2585-2294.
- 12) Watanabe Y, Aono Y, Komiya M, et al (2018) Stimulation of accumbal GABA_B receptors inhibits delta1- and delta2-opioid receptor-mediated dopamine efflux in the nucleus accumbens of freely moving rats. Eur J Pharmacol, 837 : 88-95.

■ ABSTRACT

Involvement of GABAergic neural mechanisms in the nucleus accumbens in delta- and mu-opioid receptor-mediated increases in accumbal dopamine efflux

Tadashi Saigusa

Department of Pharmacology, Nihon University School of Dentistry at Matsudo

The nucleus accumbens (NAc) is a terminal area of mesolimbic dopaminergic neurons that originate in the ventral tegmental area. Additionally, the NAc contains GABAergic neurons that interact with dopaminergic neurons. This review describes the GABAergic neural mechanisms in NAc that regulate increases in accumbal dopamine (DA) efflux induced by selective stimulation of delta- and mu-opioid receptor (-R) subtypes in freely moving rats, focusing on findings from experiments using *in vivo* microdialysis techniques. First, we consider how endogenous GABA exerts inhibition of accumbal DA efflux through GABA-R subtypes, namely GABA_A- and GABA_B-Rs. The NAc contains GABAergic neurons that express delta- or mu-opioid-Rs, hence decreases in GABA input to GABA_A- and/or GABA_B-Rs on dopaminergic nerve endings could mediate delta- or mu-opioid-R-mediated increases in accumbal DA efflux. Therefore, we summarize the effects of selective GABA_A- and GABA_B-R ligands on delta- and mu-opioid-R subtype-mediated accumbal DA efflux. This is to increase understanding of the mechanisms of interaction between GABAergic neurons that contain delta- or mu-opioid-Rs and dopaminergic neurons in NAc. Finally, we provide a synaptic network to explain the interactions among delta- or mu-opioid-R subtypes, GABAergic neurons, GABA-R subtypes and dopaminergic neurons in NAc.

(Japanese Journal of Biological Psychiatry 33 (3) : 112-116, 2022)
