

喫煙科学研究・生理薬理の10年（1996年～2005年） の歩みを回顧して

永津 俊治*

はじめに

井村裕夫先生より、喫煙がドパミン欠乏のパーキンソン病を防ぐとの疫学の報告があるがその分子機構の研究はどうか、との質問を頂いて、1990年代に、ドパミン合成の律速酵素のチロシンモノオキシゲナーゼに及ぼすニコチンの影響の研究を始めた。1997年より三須良實研究審議会委員の推薦で研究評価委員となり、三須評価委員、鍋島評価委員と共に3名で評価に参加し、2002年には笹評価委員、三輪評価委員も参加して、5名で評価をすることになった。2002年より研究審議会委員となり、三須研究審議会委員と分担で評価のまとめにも参加している。

三須編集委員長が詳しく解説されているように、喫煙科学研究財団の評価は文部科学省の科学研究費に準じた多人数客観評価で、公平厳正に科学的価値から評価されている。生理・薬理は範囲が広いので、応募も多数で評価は時間を要し、骨が折れる。毎年の研究発表会の評価方法も助成申請課題の採択の評価方法も、三須委員が改善を重ねて公平厳正な方法を築かれた。多くの研究課題で評価委員の意見はほぼ一致する。しかし、中には評価委員の意見の分かれる研究もある。例えば、他の研究分野で国際的に優れた研究を進めている研究者が、それまでの研究成果の上に立って喫煙科学の研究を目指して応募される場合、新しい研究分野を喫煙科学に開く点で大いに期待される。ただし、喫煙科学の研究はあまり進展が見られないが、専門分

野での研究はさらに大きく進展する例もある。そのような研究でも、評価の総合判定は科学としてのより広い視野より評価が高い場合が多かった。また独創性が高い研究であるが、研究成果の発表が遅くて論文が少ない例もあったが、研究助成をうちきるか、もう1年待って成果を期待するかで評価が分かれた。評価の分かれた場合には、三須委員の取られた全評価委員の判断の平均値をとる基本が最も妥当であり、私も審議会委員となって以来その方針で評価をまとめている。

採択課題の研究の10年の歩みの概観

1996年～2005年の10年の生理・薬理の採択課題は95題に及ぶ。

この膨大な研究内容をまとめて、詳細に解説することは極めて困難である。そこで、その中で特に科学的貢献度の大きい興味深い研究課題の9課題を三須委員と相談して選び、各代表研究者が、研究助成の成果を中心に各々の専門分野の総説としてこの20年誌に執筆されている。これらの全ての総説が最新で貴重であり、あらゆる生命科学・医学の研究者にとり興味深い総説である。従って、ここでは、研究の全体の歩みを、国際的にみて、感想を述べてみたい。

研究課題の分野から概観すると、喫煙の血管生物学、中枢神経の神経精神薬理学・行動薬理学、免疫学、ストレス反応・情動の生物学が多い。喫煙の全身臓器に及ぼす影響の研究は、口腔、消化器、腎臓、骨、関節、皮膚など多彩である。また全身臓器への影響として、時間生物

* 藤田保健衛生大学客員教授・名誉教授

学などの研究もある。

物質から見ると、遺伝子、酵素、トランスポーター、受容体、シグナル伝達系因子など、ヒトや動物での、遺伝子群・タンパク質群の網羅的解析など、当然であるが分子細胞生物学の全ての関連物質が解析されている。

研究方法は、生化学・分子生物学・分子遺伝学・薬理学・電気生理学・組織細胞化学・マイクロダイアリス法・DNA/タンパク質マイクロアレー・液体クロマトグラフィー/質量分析法・PET/SPECTなどの分子画像解析法など、*in vitro*、*in vivo*の、広範囲で最新の方法が用いられている。

培養細胞系での *in vitro* の研究では、血管内皮細胞、大脳皮質細胞、リンパ球、など様々な細胞が用いられている。

研究対象も、疫学的研究ではヒトでの分子遺伝学の研究、動物実験ではサル、ラット、マウス、ショウジョウバエ、線虫の研究など広範囲である。

疾患より見ると、ヒトとモデル動物について、動脈硬化、パーキンソン病、アルツハイマー病、認知症、うつ病、脳虚血、脳機能障害では認知・記憶・痛み・精神依存などの研究が多い。健康長寿重喫煙者の分子遺伝学的解析もある。

喫煙の材料としては、中心作用物質であるニコチン、たばこ煙エキストラクト cigarette smoke extract (CSE)、たばこ煙タール total particulate matter (TPM) などが用いられている。

たばこの中心作用物質であるニコチンがタバコ植物 *Nicotiana tabacum* より分離されたのが1828年であり、1893年にニコチンの構造が決定された。ニコチンは神経伝達物質アセチルコリンのニコチン性受容体イオンチャンネルに作用する。ニコチン性受容体は、骨格筋細胞の $\alpha 1$ 、 $\beta 1$ 、 γ 、 δ 、 ϵ のサブユニットと、神経型の12種の $\alpha 2$ - $\alpha 10$ および $\beta 2$ - $\beta 4$ サブユニットより構成される。

ニコチンが喫煙の生理薬理の主要な活性物質であり、喫煙科学研究の中心となる物質である

ことは明らかであるが、たばこ煙には数千に及ぶ物質が含まれており、たばこ煙エキストラクトによる研究も重要である。

喫煙の血管生物学

喫煙が動脈硬化の危険因子であることより、喫煙が血管系に及ぼす影響とその分子細胞生物学の研究が多くの研究グループにより進められた。この分野の研究は外国では少なく、日本の誇るべき研究であろう。この10年の研究より、2006年より三輪特定研究班の「喫煙の血管生物学」としてさらに研究が発展することが期待される。血管は *in vitro*、*in vivo* の実験系で細胞分子生物学の研究がやり易い組織であり、これまでに多くの興味深い研究成果が得られている。たばこ煙中の室温安定昇華性成分に、血管内皮細胞の障害因子が存在することが発見されて、分離同定が進んでいる（三輪グループ）。また、たばこ煙中にオキシダントとしてペルオキシナイトライトが同定されて、酸化ストレスにより動脈硬化の原因となることが推定された（国友グループ）。ニコチンが血管平滑筋細胞を遊走させるとの興味深い発見があった（小濱グループ）。ヒト子宮動脈を含む血管再構築系のアルギニン・オルニチン代謝経路の研究でNOとポリアミンが関与するとの新しい知見が得られた（東グループ）。NOもポリアミンも重要な情報伝達物質であり、動脈硬化のみならず、他の組織の障害にも関与することが推定される。いずれの研究も進展中であるが、これらの喫煙の血管生物学研究は、たばこ煙中の細胞障害因子の分離同定と細胞障害の分子機構の解明との両面に繋がることを期待される。

喫煙と脳神経系の生理薬理：神経保護作用

喫煙に神経保護作用があるのではないかとの仮説は、高齢者に多発する運動障害の神経変性疾患のパーキンソン病が喫煙者に少ないとの疫学の報告に始まる¹⁾。受動喫煙は発がんなどの危険性より厳しく注意されているが、受動喫煙がパーキンソン病の危険率を減少させ、そのメ

カニズムは喫煙者での危険率の減少とは独立ではないかとの報告もある²⁾。パーキンソン病は、脳の黒質線条体 (A9) ドパミンニューロンの神経変性により神経伝達物質ドパミンが欠乏して起こる。筆者らはヒト・チロシンモノオキシゲナーゼ・トランスジェニックマウスにニコチンを慢性投与すると副腎で本酵素の誘導が起きることを見出した³⁾。チロシンモノオキシゲナーゼは、ドパミン合成調節酵素である。さらに、ラットにニコチンあるいはたばこ煙を慢性投与すると、中脳の腹側被蓋野 (VTA) 一側座核一前頭前野 (A10) ドパミンニューロンでも、チロシンモノオキシゲナーゼの mRNA が増加することが報告された⁴⁾。ドパミン A10 ニューロンは、意欲、情動、記憶、学習、薬物依存 (ニコチン依存も) などの重要な脳機能に関係する神経であり、喫煙の脳機能刺激効果もニコチンがニコチン性受容体の刺激を介してドパミンを遊離するためと考えられている。

財団の研究で、ニコチンが脳皮質で神経保護作用を示すことが報告されている (赤池グループ⁵⁾)。さらに、脳皮質だけではなく、黒質ドパミン神経や網膜ニューロンなど神経型ニコチン性受容体を発現する脳皮質系以外のニューロンでも神経保護作用があることが証明された。

また Aβ 脳室内注入アルツハイマー病モデルなどの認知症モデルで、ニコチンコリン作動性神経系の機能低下が起こり、ニコチンの投与で改善されることが証明された。さらに、ニコチン性受容体をターゲットとして、新しいアルツハイマー病治療薬の薬剤の開発を目指している (鍋島グループ⁶⁾⁷⁾。

三須・五嶋グループは、これまでドーパはドパミンの前駆体でドパミンを補充してパーキンソン病に有効とされてきたが、ドーパそれ自体が神経伝達物質と考えられ、シナプス前ドパミン遊離促進、シナプス後ドパミン応答増強、アセチルコリン遊離抑制、自発運動亢進などの効果を持つことを証明した。その他にも、ドーパそれ自体が神経伝達物質であることを証明する

多くの実験の成果を見出している⁸⁾。喫煙・ニコチンの抗パーキンソン病作用の研究より、新しい神経伝達物質ドーパの発見にいたる画期的な成果である。

喫煙の脳神経刺激効果、神経保護効果について、パーキンソン病やアルツハイマー病との関連を含めて、さらに分子レベルでの研究が進むことが期待される。

喫煙とストレス

「ストレス」は Selye, Hans (1907-1982) により 1938 年に医学に導入された概念である。ストレスは生体に非特異的反応を起こす原因刺激 (ストレッサー) に対する生体反応である。ストレッサーは、脳皮質を介する心理的、感染症における病原微生物などの生物学的、有害環境の物理・化学的など多様であるが、ヒトでは脳を介する心理的ストレスが特に重要である。

脳神経細胞のニコチン性受容体を介して A10 ドパミンニューロンよりドパミンを遊離して、報酬系を刺激することが、喫煙・ニコチンの抗ストレス作用の生理・薬理機構であり、飲酒におけるエタノールの抗ストレス作用と同じと考えられている。

精神的ストレスは、脳神経回路網・視床下部一下垂体一副腎皮質・髄質を介して、脳神経系/内分泌系/免疫系に関与している。ストレス、嗜癖、情動におけるニコチン・ドーパ脳内相関 (三須/五嶋グループ)、脳内報酬系におけるニコチン性受容体の役割 (中原グループ)、情動行動と免疫機能との関連について (久保グループ)、ストレス負荷後の脳内ドパミンの遊離 (高田グループ)、などの喫煙・ニコチンとストレスとの関連について多面的な研究がなされた。

脳視交叉上核の中核時計の情報は、交感神経ルートで副腎に至り、副腎皮質ホルモンに変換され、全身の時を調律し、ニコチン性受容体は副腎髄質で働くとの、独創的な成績と仮説が提出された (岡村均グループ)。

喫煙と免疫については、リンパ球のアセチルコリン系についての独創的な研究がある (川島

グループ⁹⁾。

喫煙と飲酒はストレスを防御する人類共通の嗜好品であり、両者の生理・薬理も含めて共通するところが多い。喫煙も飲酒も、脳 A10 ドパミンニューロンからドパミンを遊離して、報酬系を刺激して抗ストレス作用を示す。

喫煙も飲酒もその抗ストレス作用のために長年にわたり人類が嗜好品として用いてきたが、その健康に対する副作用が科学的に次第に解明されて、医学的・社会的問題となっている。喫煙では自分の健康に対する副作用と共に、受動喫煙による他人に対する健康の副作用が問題となり、路上喫煙禁止などの喫煙のマナーが厳しく問われている。飲酒でも自分の健康に対する副作用と共に、飲酒による犯罪や、飲酒運転による自動車事故が国際的に問題となっており、飲酒運転は法的に禁止されている。飲酒は食事と共になされることが多いので、時間を要する。これに対して、喫煙は短時間に嗜むことができ、気分転換、ストレスの解消ができる。喫煙も飲酒も習慣性になり易い点も類似しており、ドパミン A10 ニューロンが関与すると考えられる。

喫煙の感受性遺伝子の分子遺伝学

喫煙も飲酒も、抗ストレス作用の分子機構が脳科学で解明されると共に、ニコチンやアルコールの代謝・たんでき性・発がんなどの副作用に関連する遺伝子が生化学・分子生物学・分子遺伝学により解明されてきた。喫煙も飲酒も、抗ストレス作用と副作用に対する量が個人で異なり、その差異は遺伝子の変異によることが明らかになって来た。遺伝子とタンパク質のマイクロアレーなどによる網羅的解析による最近の知見が、喫煙の生理・薬理に貢献することが期待される。財団の研究でも、ニコチン代謝の個体差に関連する *CYP2A6* 遺伝子多型について優れた分子遺伝学の成果がある（横井/黒岩グループ¹⁰⁾）。

喫煙科学と *in vivo* 分子画像解析と創薬

喫煙・ニコチンの記憶・学習・認知・神経保護・抗不安・鎮痛などなどの高次脳機能作用は、PET や SPECT のような *in vivo* 分子画像解析で非侵襲的にヒトで解析が可能である。佐治グループは、ニコチン性アセチルコリン受容体に高い親和性・特異性をもつ新規化合物 5-iodo-3-(2-(S)-azetidylmethoxy)pyridine (5IA/A-85380) を開発して、5IA により *in vivo* でヒトでニコチン性受容体イメージングに成功し、5IA はニコチン性受容体 $\alpha 4\beta 2$ サブタイプを介して神経保護作用や鎮痛作用に関連することを明らかにした¹¹⁾。本研究は、5IA が神経保護・認知機能改善薬となる可能性を示しており、分子イメージングと共に、創薬でも将来性の高い研究である。米国でも、ニコチン性受容体 $\alpha 4\beta 2$ 作動薬がパーキンソン病、アルツハイマー病、鎮痛に有望なことが認められている¹²⁾。

おわりに

1996～2005 年の 10 年の生理薬理の研究の歩みの全体を見て、国際的視野より概説した。研究領域と成果は膨大であり、筆者の専門と興味とにより、感想をのべた。概説で触れなかった研究の中にも、多くの興味深い将来性の高い研究があった。喫煙の健康に及ぼす影響を医学・生命科学の全ての分野より総合的に解明する喫煙科学の研究は学際的である。今後の研究は、この学際的な研究をさらに推進して、喫煙の功罪のより明確な事実とその分子機構とを、分子遺伝学などのさらに進展する新しい方法論により解明し、あるいは医学と工学の医工連携研究などにより、罪の点を無くして、功の点を創薬に応用することが希望される。

文 献

- 1) Morens DM, Grandinetti A, Reed D, White LR, Ross GW. Cigarette smoking and protection from Parkinson's disease: false association or etiologic clue? *Neurology* 1995; 45: 1041-51.
- 2) Mellick GD, Gartner CE, Silburn PA, Battistutta D. Passive smoking and Parkinson's disease. *Neurology* 2006; 67: 179-80.

- 3) Ota A, Ichinose H, Kobayashi K, Morita S, Sawada H, Mizuguchi T, Nagatsu T. Nicotine-induced regulation of tyrosine hydroxylase activity in adrenal gland of transgenic mouse carrying human tyrosine hydroxylase gene. *Neurosci Lett* 1994; 166: 55-8.
- 4) Li SP, Park MS, Kim JH, Kim MO. Chronic nicotine and smoke treatment modulate dopaminergic activities in ventral tegmental area and nucleus accumbens and the gamma-aminobutyric acid type B receptor expression of the rat prefrontal cortex. *J Neurosci Res* 2004; 78: 868-79.
- 5) Akaike A, Tamura Y, Yokota T, Shimohama S, Kimura J. Nicotine-induced protection of cultured cortical neurons against N-methyl-D-aspartate receptor-mediated glutamate cytotoxicity. *Brain Res* 1994; 644: 181-7.
- 6) Yamada K, Nabeshima T. Animal models of Alzheimer's disease and evaluation of anti-dementia drugs. *Pharmacol Ther* 2000; 88: 93-113.
- 7) Chen L, Yamada K, Nabeshima T, Sokabe M. $\alpha 7$ Nicotinic acetylcholine receptor as a target to rescue deficit in hippocampal LTP inhibition in β amyloid infused rats. *Neuropharmacology* 2006; 50: 254-68.
- 8) Misu Y., Goshima Y (Eds). *Neurobiology of DOPA as a Neurotransmitter*. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, Florida, pp1-384, 2006.
- 9) Kawashima K, Fujii T. The lymphocytic cholinergic system and its contribution to the regulation of immune activity. *Life Sci* 2003; 74: 675-96.
- 10) Nakajima M, Kuroiwa Y, Yokoi T. Inter-individual differences in nicotine metabolism and genetic polymorphisms of human CYP2A6. *Drug Metab Rev* 2002; 34: 865-77.
- 11) Mamede M, Ishizu K, Ueda M, Mukai T, Iida Y, Fukuyama H, Saga T, Saji H. Quantification of human nicotinic acetylcholine receptors with [123 I]-5IA SPECT. *J Nucl Med* 2004; 45: 1458-70.
- 12) Rueter LE, Donnelly-Roberts DL, Curzon P, Briggs CA, Anderson DJ, Bitner RS. A-85380: a pharmacological probe for the preclinical and clinical investigation of the $\alpha 4\beta 2$ neuronal nicotinic acetylcholine receptor. *CNS Drug Rev* 2006; 12: 100-12.