

学位論文題名

メタンフェタミン反復投与後のラット線条体
ドーパミン神経終末における取り込み部位の変化について

覚醒剤精神病の再燃機構解明へのアプローチ

学位論文内容の要旨

I 研究目的と実験方法

覚醒剤精神病の再燃の特徴を反映した行動薬理学的動物実験モデルにおいて認められる、覚醒剤反復投与後の動物の常同行動の増強現象は、行動感作 behavioral sensitization と呼ばれ、その背景となる神経化学的検討の報告は枚挙にいとまがない。本研究では常同行動発現の責任中枢と考えられている線条体ドーパミン dopamine (DA) 系について着目し、メタンフェタミン methamphetamine (MAP) をラットに反復投与することにより、行動感作を示す覚醒剤精神病モデルラットを作成した。既報ではこの行動感作ラットにみられる、MAP 再投与時の常同行動増強に相関する線条体シナプス間隙 DA 量の増加が、行動感作の現象を説明する神経化学的機序であることが明らかにされている。本研究では、この所見の成立機転を探る目的で、放出された DA を不活性化させる機構である DA 取り込み部位の変化について検討を加えた。

実験には Wistar - King 系雄性成熟ラット (200~250 g) を用いた。MAP を隔日で一日に 2 回、一回量 2.5, 5, 7.5, 10mg/kg 皮下投与することにより、行動感作ラットを作成した。このラットについて、

1. DA 取り込み能の変化を探る目的で、MAP 反復投与後の線条体を用い [³H] DA 取り込み実験を行った。同時に DA 取り込み部位数の変化を探る目的で、DA 取り込み部位に対して高い選択性を有するとされる [³H] GBR12935 をリガントとして用い、その結合特性を検討した上で、MAP 反復投与後の線条体で結合実験を行った。次いでこの変化をもたらす MAP の用量依存性や、この変化の持続性について検討を加えた。

2. この DA 取り込み部位変化の機序として、MAP 反復投与により大量に放出される DA が関与している可能性を仮定し、DA 生合成阻害剤 α -methyl-p-tyrosine (α -MPT), DA

枯渴剤 reserpine, DA 取り込み阻害剤 amfonelic acid (AFA) の前処置を行い, 前シナプスでの DA 動態を変化させた上で MAP の反復投与を行い, [³H] GBR12935 結合実験の Bmax 値を指標として DA 取り込み部位数を比較検討した。

3. 同様に DA 取り込み部位変化の機序解明の目的で, DA 受容体の遮断が前シナプスでの DA の代謝回転の変化を介して与える影響を検討した。これにはそれぞれ選択的 D₁, D₂ 受容体拮抗薬である SCH23390 (SCH), YM-09151-2 (YM) を前処置した MAP 反復投与ラットで, [³H] GBR12935 結合実験を行うとともに, SCH, YM の反復投与が DA の代謝回転に与える影響について検討した。

II 結果および考察

1. MAP 反復投与終了後 7 日目における [³H] DA 取り込み実験の Vmax 値は, MAP 群で有意な減少が認められ, MAP 群では DA の取り込み能が低下していることが明らかとなった。同時点での [³H] GBR12935 結合実験の Bmax 値 (DA 取り込み部位数) は MAP 群で生食群の 71% まで有意に減少していた。MAP の用量を変化させて反復投与した後 7 日目での [³H] GBR12935 結合実験では, DA 取り込み部位数が従来の 1/4 量の MAP を投与した群では, 対照群と変化ないが, 1/2 の投与量群では減少傾向を示し, 3/4 の投与量群と従来の投与量群では, 有意な減少を示した。すなわち DA 取り込み部位の減少の程度と MAP 投与量との間に明瞭な用量依存性が認められた。MAP 反復投与終了後 30 日目における [³H] GBR12935 結合実験の DA 取り込み部位数は MAP 群で対照群の 71% までの有意な減少を示し, MAP 投与終了後 7 日目と同程度の減少を示した。即ち, MAP の反復投与はその用量がある閾値を越えると, DA 取り込み部位の減少をひきおこすこと, そしてこの減少所見は一旦発現すると長期にわたって持続する変化であることが明らかとなった。換言すれば, 今回の MAP 反復投与は DA 神経終末シナプス前膜における可塑的な構造病変が生じていることを意味する。

2. 前シナプス性 DA 動態を変化させた後に MAP を反復投与したラット線条体における [³H] GBR12935 結合実験の結果, DA 取り込み部位数はやはり MAP 単独処置群において他の群に対し有意な減少を示し, さらに reserpine 前処置群においてこれを大きく上回る減少を示した一方, 対照群, α -MPT 前処置群, AFA 前処置群との間に有意差はみられなかった。MAP の投与は貯蔵部位の DA ではなく cytosolic newly synthesized DA の放出を促進するとされている。そしてこれにはシナプス前膜に存在する uptake carrier による能動的な diffusion - exchange system が機能しているとされている。 α -MPT 前処置は cytosolic newly

synthesized DA を減少させると考えられる。また AFA の存在下では、細胞膜の DA diffusion - exchange system が阻害されるため MAP 投与による DA 放出は抑制されるとの報告がある。今回の結果から MAP によりシナプス間隙に放出される cytosolic newly synthesized DA 量を減少させる前処置や、DA 放出が抑制される前処置が、MAP 反復投与による DA 取り込み部位の減少を阻止することが明らかとなった。即ち MAP 反復投与により大量に放出される cytosolic newly synthesized DA が、DA 取り込み部位減少に関与するとした仮定を支持した。reserpine の前処置は貯蔵部位の DA 枯渇にとどまり、MAP 投与による DA 取り込み部位減少には影響を与えないと考えられた。

3. SCH, YM 前処置後に MAP を反復投与したラット線条体における [^3H] GBR12935 結合実験の結果は、MAP 単独処置群のみが他の群に対し有意な DA 取り込み部位数の減少を示した。つまり選択的 D_1 , D_2 , 受容体拮抗薬いずれの前処置も、MAP 反復投与がもたらす DA 取り込み部位減少を阻止することが明らかとなった。しかし SCH, YM を単独で反復投与し DA の代謝回転を検討した結果、 D_1 受容体の遮断は DA の生合成能は、対照群との間に有意差は認められず、前シナプスでの DA 代謝回転に影響しないと考えられた。また D_2 受容体遮断は前シナプスでの DA の生合成過程には、むしろ促進的に作用することが明らかとなった。この結果から後シナプス DA 受容体の反復した遮断により、耐性現象として前シナプス性の cytosolic newly synthesized DA の合成ならびに放出が減少していることを想定することは困難と思われた。 D_1 , D_2 受容体いずれかの遮断が、後シナプスにおける何らかの相互作用を介して DA 取り込み部位減少を阻止した可能性、さらに DA 神経伝達系以外のニューロンネットワークの関与を想定することが必要と考えられた。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 山 下 格
副 査 教 授 本 間 研 一
副 査 教 授 齋 藤 秀 哉

覚醒剤精神病の再燃の特徴を反映した行動薬理学的動物実験モデルにおいて認められる、覚醒剤反復投与後の動物の常同行動の増強現象は、行動感作 behavioral sensitization と呼ばれる。

そしてこの行動感作ラットにみられる。覚醒剤再投与時の常同行動増強に相関する線条体シナプス間隙ドーパミン dopamine (DA) 量の増加が、行動感作の神経化学的機序であることが明らかにされている。本研究ではメタンフェタミン methamphetamine (MAP) をラットに反復投与することにより、行動感作を示す覚醒剤精神病モデルラットを作成し、常同行動発現の責任中枢と考えられている線条体 DA 系について、放出された DA を不活性化させる機構である DA 取り込み部位の変化について検討を加えた。

実験には Wistar - King 系雄性成熟ラット (200~250 g) を用いた。MAP を隔日で一日に 2 回、一回量 2.5, 5, 7.5, 10mg/kg 皮下投与することにより、行動感作ラットを作成した。このラットについて、

1. DA 取り込み能の変化を探る目的で、線条体での [³H] DA 取り込み実験を行った。同時に DA 取り込み部位数の変化を探る目的で、DA 取り込み部位に高い選択性を有する [³H] GBR12935 をリガンドとして用い線条体での結合実験を行った。次いでこの変化をもたらす MAP の用量依存性や、この変化の持続性について検討を加えた。

2. この DA 取り込み部位減少の機序として、MAP 反復投与により大量に放出される DA の関与を想定し、DA 生合成阻害剤 α -methyl - p - tyrosine (α -MPT), DA 枯渇剤 reserpine, DA 取り込み阻害剤 amfonelic acid (AFA) の前処置を行い、前シナプスでの DA 動態を変化させた上で MAP の反復投与を行い、 [³H] GBR12935 結合実験の Bmax 値を指標として DA 取り込み部位数を比較検討した。

3. 同様に DA 取り込み部位減少の機序解明の目的で、DA 受容体の遮断が与える影響を検討した。これにはそれぞれ選択的 D₁, D₂ 受容体拮抗薬である SCH23390 (SCH), YM-09151-2 (YM) を前処置した MAP 反復投与ラットで、 [³H] GBR12935 結合実験を行うとともに、SCH, YM の反復投与が DA の代謝回転に与える影響について検討した。

その結果まず、

1. MAP 反復投与終了後 7 日目における [³H] DA 取り込み実験の Vmax 値 (DA 取り込み量) は MAP 群で有意に減少しており、MAP 群では DA 取り込み能が低下していた。 [³H] GBR12935 結合実験の Bmax 値 (DA 取り込み部位数) は MAP 群での有意な減少が認められた。MAP の用量を変化させて反復投与後 7 日目の [³H] GBR12935 結合実験では、DA 取り込み部位数が従来の 3/4 量の MAP 投与群と従来の投与量群で有意な減少を示し、DA 取り込み部位減少の程度と MAP 投与量との間に明瞭な用量依存性が認められた。MAP 反復投与終了後 30 日目の DA 取り込み部位数は、MAP 投与終了後 7 日目と同程度の減少を示した。

即ち、MAPの反復投与はその用量がある閾値を越えると、DA取り込み部位の減少をひき起こすこと、そしてこの減少所見は一旦発現すると長期にわたって持続する変化であることが明らかとなった。

2. 前シナプス性DA動態を変化させてMAPを反復投与した $[^3\text{H}]$ GBR12935結合実験の結果、DA取り込み部位数はやはりMAP単独処置群において他の群に対し有意な減少を示した一方、対照群、 α -MPT前処置群、AFA前処置群との間に有意差はみられなかった。MAPの投与は、シナプス前膜に存在するuptake carrierによる能動的なdiffusion-exchange systemにより、貯蔵部位のDAではなくcytosolic newly synthesized DAの放出を促進するとされている。 α -MPT前処置はcytosolic newly synthesized DAを減少させ、またAFA前処置は、細胞膜のDA diffusion-exchange systemが阻害されるためMAP投与によるcytosolic newly synthesized DA放出は抑制されており、MAP反復投与により大量に放出されるcytosolic newly synthesized DAが、DA取り込み部位減少に関与するとした仮定を支持した。

3. SCH YM前処置後にMAPを反復投与した後の $[^3\text{H}]$ GBR12935結合実験の結果は、MAP単独処置群のみが他の群に対し有意なDA取り込み部位数の減少を示し、選択的 D_1 、 D_2 受容体拮抗薬いずれの前処置も、MAP反復投与がもたらすDA取り込み部位減少を阻止した。しかしSCH、YMを単独で反復投与しDAの代謝回転の検討結果は、 D_1 受容体の遮断は前シナプスでのDA代謝回転に影響せず、 D_2 受容体遮断はDAの生合成過程にはむしろ促進的に作用した。この所見から後シナプスDA受容体の反復した遮断により、前シナプス性のcytosolic newly synthesized DAの合成ならびに放出が減少していることを想定することは困難と思われる。後シナプスにおける何らかの相互作用を介してDA取り込み部位減少を阻止した可能性、さらにDA神経伝達系以外のニューロンネットワークの関与を想定することが必要と考えられた。

以上の発表に際し本間研一教授より3点質問を受け回答した。(1)DA取り込み部位減少に関わるとされるシナプス間隙DA量の増加は、MAPによるDA取り込み阻害によるものではないのか。-MAPの末梢自律神経作用においてはDA取り込み阻害も重視されるが、中枢においてはMAPによるDA放出増強が主たる機序と考える。(2)MAP投与に際し α -MPT, reserpineの前処置はDA放出を抑制すると考えられるが、DA取り込み部位減少に差異がみられるのはなぜか。-DA取り込み部位減少には α -MPTにより阻害されるcytosolic newly synthesized DAの大量放出が原因を担っていると考えている。(3)行動感作ラットへの外来性のDA投与は

検討したか。また後シナプス DA 受容体ならびに受容体以降の機構の変化について検討したか。
—既報で今回と同様の行動感作ラット線条体での受容体結合実験の結果、ドーパミンD₁、D₂受容体の結合特性は不変であった、従って外来性の DA 投与がラットの行動を増強するとは考えにくい。また受容体以降の機構については本研究では検討しなかった。

本研究は、妄想型精神分裂病の動物モデルとみなされる MAP 反復投与ラットについて、薬物投与を中止して長期間後にも前シナスにおける DA 取り込み部位の低下を認め、その発現機序について検討を加えたもので、覚醒剤精神病および精神分裂病の病態の理解に寄与するところが大きく、博士の学位に値するものと判定された。