

学 位 論 文 題 名

# Methamphetamine によるラット線条体 Dopamine

## 取り込み部位減少と行動感作に及ぼす

## NMDA 受容体拮抗薬の影響に関する研究

### 学位論文内容の要旨

#### 緒 言

覚醒剤精神病は、急性期において、妄想型分裂病に酷似した精神症状が認められ、また、寛解状態にあっても、覚醒剤の再使用、情動ストレスなどによって精神症状の再燃がみられるという臨床上的特徴を有する。この情動ストレスなどによる精神症状の再燃は、精神分裂病の再発準備性と相似の現象と捉えられることが可能である。従って、覚醒剤の長期運用によって、中枢神経系におこる薬物生体反応の変化を明確にすることは、精神分裂病の生物学的基盤を明らかにする上で重要と思われる。著者らは、この中枢変化の本態を探る目的で、ラットに methamphetamine (MAP) を反復投与することにより、覚醒剤精神病に対応する実験モデルを作成し、断薬後の MAP 再投与によるラットの行動感作を取り上げてきた。さらに、この現象の神経化学的基盤に、MAP 再投与時の線条体 dopamine (DA) シナプス間隙における DA 大量増加を想定し、その発現機序のひとつに長期にわたる DA 取り込み部位の減少を指摘した。ところで、近年、興奮性アミノ酸受容体のひとつである N - methyl - D - aspartate (NMDA) 受容体と DA ニューロンの関係が注目を集めている。また、MK-801などの非競合的 NMDA 受容体拮抗薬が、低酸素、低血糖、けいれん重積状態などによる神経細胞の障害を阻止するという報告も相次いでなされている。本研究では、上述の MK-801の神経細胞障害抑止効果という面に着目し、NMDA 受容体拮抗薬の、MAP 反復投与による DA 取り込み部位の減少に対する影響、さらにその行動感作に与える影響について検討した。

#### 対象と方法

体重200～250 g の Wistar - King 系雄性ラットを使用した。MAP 処置は、1日に2回、1

回量2.5, 5, 7.5, 10mg/kgと漸増しながら, 1日おきにラットに1週間皮下投与した。同時に, 対照群には生理的食塩水1 ml/kgを投与した。以下の実験では, 上記スケジュールに基づくMAP投与に, NMDA受容体の非競合的拮抗薬であるMK-801ないし競合的拮抗薬SDZ EAA 494の併用投与を行った。断頭は, 処置終了後7日目に行い, 膜標品は, 断頭後に氷上にて切り出し, -70℃で保存した線条体より調整したものを用いた。DA取り込み部位の測定は, Janowskyらの方法に従い [<sup>3</sup>H] GBR 12935を用いた飽和結合実験を行った。行動薬理学的実験は, 処置終了後7日目にMAP2.5mg/kgを皮下投与し, 行動の変化を観察した。移所運動量は, 赤外線センサーを用いて測定した。常同行動は, 総合評価は, Dougherty&Ellinwoodの原法に準じ, また, head and limb movement, sniffingの各コンポーネントについては, Robinson, T. E.らの評価法に従って採点した。

## 結 果

### 1. MAP反復投与によるDA取り込み部位減少に及ぼすMK-801併用投与の影響

DA取り込み部位は, MAP単独投与群で対照群に比べて有意に減少した。他方, MAP・MK-801併用投与群では, その減少が完全に阻止された。MK-801単独投与群では対照群との間に有意差を認めなかった。MK-801の併用投与の効果は, 用量依存性であった。

### 2. MAP反復投与によるDA取り込み部位減少に及ぼすSDZ EAA494併用投与の影響

MAP・SDZ EAA494併用群では, MAP投与によるDA取り込み部位の減少が完全に阻止された。SDZ EAA494単独投与群では対照群との間に有意差を認めなかった。SDZ EAA494の併用投与の効果は, 用量依存性であった。

### 3. MAP反復投与による行動感作に及ぼすMK-801併用投与の影響

移所運動量は, MAP単独投与群で増加を示したが, MAP・MK-801併用投与群では, 有意に抑制された。常同行動も総合評価および各コンポーネントの評価において, MK-801の併用投与は, MAPによる増強を有意に抑制した。一方, MK-801単独投与群は, 移所運動量, 常同行動ともに対照群との間に有意差を認めなかった。

## 考 察

著者らは, 従来より覚醒剤精神病モデルラットにおける線条体DA取り込み部位の減少と, その長期にわたる持続を指摘してきた。その機序として, MAP投与によって大量に放出される新たに合成されたDAが, DA取り込み部位減少に関与していると考えられている。本研究に

より、MAP 反復投与による線条体 DA 取り込み部位の減少が、非競合的 NMDA 受容体拮抗薬 MK-801 および競合的拮抗薬 SDZ EAA494 によって阻止されることが示された。これは、MAP 神経終末の変化に NMDA 受容体を介する興奮性アミノ酸の関与することを強く支持する所見である。線条体は、大脳皮質から多くの興奮性アミノ酸ニューロンの投射を受けており、最近では、線条体の DA 神経終末に NMDA 受容体を介する前シナプス性の DA 放出調整機構の存在が知られている。従って、今回の結果についても、MK-801 および SDZ EAA494 の前処置が、MAP 投与時における DA 大量放出に影響を及ぼしたと考えることが可能である。また一方、DA がグルタミン酸の取り込みを阻害するという報告もあり、MAP 投与により増加した興奮性アミノ酸に MK-801 および SDZ EAA494 が拮抗することにより、DA 取り込み部位を含む DA 神経終末の変化を阻止した可能性も考え得る。さらに本研究では、MK-801 が、MAP による行動感作の形成を阻止することが確認された。これにより、行動感作成立の神経化学的基盤のひとつと考えられる DA 取り込み部位の変化とともに、行動感作そのものについても NMDA 受容体が関与すること明らかにされたわけである。今後、興奮性アミノ酸と DA 系の相互作用、また NMDA 受容体と覚醒剤精神病における DA ニューロンを中心とした持続的な中枢変化との関係については、さらに検討を要する課題と思われる。

## 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 斎 藤 秀 哉

覚醒剤精神病は、急性期において、妄想型分裂病に酷似した精神症状が認められ、また寛解状態にあっても、覚醒剤の再使用、情動ストレスなどによって精神症状の再燃がみられるという臨床上的特徴を有する。この情動ストレスなどによる精神症状の再燃は、精神分裂症の再発準備性と相似の現象と捉えることが可能である。従って、覚醒剤の長期連用によって、中枢神経系における薬物生体反応の変化を明確にすることは、精神分裂症の生物学的基盤を明らかにする上で重要と思われる。著者らは、この中枢変化の本態を探る目的で、ラットに methamphetamine (MAP) を反復投与することにより、覚醒剤精神病に対応する実験モデルを作成し、断薬後の

MAP 再投与によるラットの行動感作を取り上げてきた。さらに、この現象の神経化学的基盤に、MAP 再投与時の線条体 dopamine (DA) シナプス間隙における DA 大量増加を想定し、その発現機序のひとつに長期にわたる DA 取り込み部位の減少を指摘した。ところで、近年、興奮性アミノ酸受容体のひとつである N - methyl - D - aspartate (NMDA) 受容体と DA ニューロンの関係が注目を集めている。また、MK-801などの非競合的 NMDA 受容体拮抗薬が、低酸素、低血糖、けいれん重積状態などによる神経細胞の障害を阻止するという報告も相次いでなされている。本研究では、上述のMK-801の神経細胞障害抑止効果という面に着目し、NMDA 受容体拮抗薬の、MAP 反復投与による DA 取り込み部位の減少に対する影響、さらにその行動感作に与える影響について検討した。

実験には、体重200~250 g の Wistar - King 系雄性ラットを使用した。MAP 処置は、1 日 2 回、1 回量2.5, 5, 7.5, 10mg/kgと漸増しながら、1 日おきにラットに1 週間皮下投与した。同時に、対照群には生理的食塩水 1 ml/kgを投与した。以下の実験では、上記スケジュールに基づく MAP 投与に、NMDA 受容体の非競合的拮抗薬である MK-801ないし競合的拮抗薬 SDZ EAA494の併用投与を行った。断頭は、処置終了後 7 日目に行い、膜標品は断頭後に氷水にて切り出し、-70℃で保存した線条体より調整したものをを用いた。DA 取り込み部位の測定は、Janowsky らの方法に従い [3 H] GBR 12935を用いた飽和結合実験を行った。行動薬理学的実験は、処置終了後 7 日目に MAP2.5mg/kgを皮下投与し、行動の変化を観察した。移所運動量は、赤外線センサーを用いて測定した。常同行動は、総合評価は、Dougherty&Ellinwood の原法に準じ、また、head and limb movement, sniffing の各コンポーネントについては、Robinson, T. E. らの評価法に従って採点した。

その結果、DA 取り込み部位は、MAP 単独投与群では対照群に比べて有意に減少したが、MK-801を併用投与した MAP 群では、その減少が用量依存性に阻止された。また、SDZ EAA 494も併用投与によって、MAP 投与による DA 取り込み部位の減少を用量依存性に阻止した。MK-801および SDZ EAA494の単独投与群では対照群との間に有意差を認めなかった。さらに、行動薬理学的実験において、移所運動量は、MAP 単独投与群で増加を示したが、MAP・MK-801併用投与群では、有意に抑制された。常同行動も、総合評価および各コンポーネントの評価において、MK-801の併用投与は、MAP による増強を有意に抑制した。一方、MK-801単独投与群は、移所運動量、常同行動ともに対照群との間に有意差を認めなかった。

以上の結果から、MAP 反復投与による DA 神経終末の変化に NMDA 受容体を介する興奮性アミノ酸が関与することが示唆された。線条体は、大脳皮質から多くの興奮性アミノ酸ニュー

ロンの投射を受けており、最近では、線条体の DA 神経終末に NMDA 受容体を介する前シナプス性の DA 放出調節機構の存在が知られている。従って、今回の結果についても、MK-801 および SDZ EAA494 の前処置が、MAP 投与時における DA 大量放出とそれに基づく DA 取り込み部位減少に影響を及ぼしたと考えることが可能である。また一方、DA がグルタミン酸の取り込みを阻害するという報告もあり、MAP 投与によって放出された DA により増加した興奮性アミノ酸に、MK-801 および SDZ EAA494 が拮抗することにより、DA 取り込み部位を含む DA 神経終末の変化を阻止した可能性も考え得る。さらに本研究では、MK-801 が、MAP による行動感作の形成を阻止することが確認された。これにより、行動感作成立の神経化学的基盤のひとつと考えられる DA 取り込み部位の変化とともに、行動感作そのものについても、NMDA 受容体が関与することが示された。本研究の結果は、覚醒剤精神病における中枢神経系の変化を探る上で、DA 系に加えて興奮性アミノ酸系の関与も考慮すべきことを示唆している。

以上の発表に際し各教授より質問を受け回答した。本間研一教授。(1)MAP 興奮性アミノ酸ニューロンを刺激し、グルタミン酸を放出すると考えるか。－MAP については知られていないが、DA がグルタミン酸の再取り込みを抑制するという間接作用の報告はある。(2)NMDA 受容体を DA ニューロンの autoreceptor のように考えるのか。－線条体では、NMDA 受容体を介して、DA 放出が前シナプス性に調節されることが知られている。(3)今回の MAP・MK-801 併用投与時の行動変化は。－移所運動量が増加する印象を受けた。斎藤秀哉教授。(1)各薬物、DA の血中濃度は測定したか。－今回は行っていない。(2)MAP 投与によるラットの体重減少、食餌摂取量低下はあったか。－若干の食餌量低下があり、体重増加が遅延した。(3)DA 以外のカテコールアミンについて検索したか。－今回は行っていない。小山富康教授。MK-801 が DA 取り込み部位を直接保護すると考えられるか。－可能性はあるが、他の神経細胞障害に対する抑止効果のごとく単純なメカニズムは考えにくい。宮崎保教授。(1)雄性ラットを使用した意図は。－従来より統一して使用している。(2)DA 取り込み部位は「受容体」と考えてよいのか。－DA のトランスポーターとされている。(3)「DA 神経終末の変化」とは。－DA 取り込み部位を含む細胞膜の変性と考えている。(4)NMDA 受容体拮抗薬は臨床的に使用可能か。－今回使用した薬物は副作用等のため臨床応用は困難と思われる。(5)興奮性アミノ酸は分裂病の病因と関連するか。－何からの関連を有するものと想定している。

本研究は、精神分裂病類似の精神症状を生ずる覚醒剤精神病の動物モデルを作成し、投与中止後にもみられる前シナプスの DA 再取り組み低下および MAP 再投与による常同行動と移所運動量増加を NMDA 受容体拮抗薬が顕著に抑制することを見だし、覚醒剤精神病ないし精神

分裂病の病態に興奮性アミノ酸の関与する可能性を示唆する重要な所見を得たもので、博士の学位に値するものと判定された。