

覚醒剤精神病モデルラットにおける gamma-aminobutyric acid (GABA)-benzodiazepine 神経伝達系の役割について

学位論文内容の要旨

覚醒剤（Methamphetamine：MA）を長期間乱用すると、次第に幻覚妄想状態などの精神分裂病に類似した精神症状が出現し、いったん出現すると薬物休止後も再発準備性が持続し、少量の覚醒剤再使用や、情動ストレス、環境変化などによって精神症状が再燃することが知られている。このような精神分裂病の幻覚妄想状態との横断面での類似性と、再燃、治療抵抗性との縦断面での類似性ことから、覚醒剤精神病は精神分裂病の病態モデルとして注目されている。

一方、覚醒剤を実験動物に反復投与すると運動増強作用や常同行動惹起作用が次第に増強し、休薬後にも過敏性が長時間持続し、覚醒剤再投与によって増強反応を示す。この現象は行動感作あるいは逆耐性（Sensitization）と呼ばれ、コカインなど他の薬物や非特異的なストレスに対しても交差過敏性を示す。このような類似性から、動物における行動感作のメカニズムの研究は、覚醒剤精神病の解明に有益であり、さらには精神分裂病の理解にも寄与するものと期待される。

行動感作は脳内の可塑的变化を基盤に持つものと思われ、学習やキンドリングあるいは長期増強（Long Term Potentiation）などと類似する側面を有する。すなわち、いずれの現象も反復刺激によって形成され、N-methyl-D-aspartic acid（NMDA）受容体拮抗薬やムスカリン性アセチルコリン受容体阻害薬、タンパク合成阻害薬などによって形成が抑制される。このような現象的、薬理学的な共通性を考慮すると、学習やキンドリングに対して抑制的に働く薬剤が、どのような作用を示すかを検討することは意義のあることである。

抑制性神経伝達物質である GABA-benzodiazepine 作動薬は、学習やキンドリングに対し抑制的に働くことが知られている。臨床的にも精神分裂病の急性症状に対する鎮静作用や不安軽減効果を示すという報告や、慢性精神分裂病患者の死後脳研究において benzodiazepine 受容体に変化を認めたとする報告も認められ、精神分裂病の病態にも GABA-benzodiazepine 系はある程度関与していると推定される。本研究では、抑制性神経伝達物質である GABA-benzodiazepine 受容体複合体に作用点を持つ benzodiazepine 系薬剤を用い、精神分裂病のモデルでもある覚醒剤精神病モデル動物を対象に、運動増強作用を指標として行動感作に対する影響を検討した。

実験には 190～270g の Wistar-King 系雄性ラットを使用した。投与後の行動は視察的観察あるいは、赤外線センサーを用い運動量を測定した。視察的観察については、90

分間の各々のラットの行動評価点の合計点（合計行動評価点）について、Kruskal-Wallis の検定を行い、有意差の認められる場合には Mann-Whitney の U 検定を行い各群間比較した ($P < 0.05$)。赤外線センサーによる測定は 2 元配置分散分析 (two-way ANOVA) により各群と時間との交互作用をみた。交互作用が認められる場合、Duncan の方法による多重比較を行い有意差をみた ($P < 0.05$)。さらに 1 元配置分散分析 (one-way ANOVA) を行い、各時間ごとに Duncan らの方法による多重比較を行い各群間の比較を行った ($P < 0.05$)。使用薬剤としては、benzodiazepine 作動薬は clonazepam (CZP)、benzodiazepine 拮抗薬は flumazenil (Flu) を使用した。

はじめに、MA 行動感作獲得過程に及ぼす benzodiazepine 作動薬の影響について検討した。MA (1mg/kg) の投与を 10 日間反復して受けたラットは、生食反復処置を受けた群と比較して、7~8 日間の休薬期間において MA 1mg/kg を皮下投与した際の合計行動評価点が有意に増加していた。このことは行動感作が形成されていたことを示している。CZP を併用反復処置すると、CZP は行動感作獲得を用量依存性に抑制していた。

次に、MA 行動感作獲得過程に及ぼす benzodiazepine 拮抗薬の影響について検討した。Flu (10mg/kg) +MA 反復処置群について、7~8 日間の休薬期間において各群に MA (1mg/kg) を皮下投与した際の運動量の検討では、MA 反復処置群は生食反復処置群に対し有意に運動量が増加していた。Flu (10mg/kg) +MA 反復処置群でも運動量が増加しており、MA 反復処置群との間には有意な変化は認められなかった。また、急性投与実験において、Flu (10mg/kg) の投与量では MA の急性投与による運動増加に対しては影響を与えなかった。以上から Flu は MA 行動感作獲得過程は抑制しないと考えられる。

さらに、Benzodiazepine 作動薬の MA 行動感作獲得過程抑制効果に及ぼす拮抗薬併用投与の影響について検討した。MA 反復処置群は、生食反復処置群と比較して有意に運動量が増加し行動感作が形成されていた。一方、CZP (0.5mg/kg) +MA 反復処置群は生食反復処置群との間には有意な変化は認められず、CZP (0.5mg/kg) は行動感作獲得を抑制していた。さらに、FLU (10mg/kg) +CZP+MA 反復処置群は MA 反復処置群との間には有意な変化は認められなかった。これらの結果より、FLU (10mg/kg) は CZP (0.5mg/kg) の行動感作獲得抑制効果を阻止したと考えられる。

CZP は中枢性 benzodiazepine 受容体に高い親和性と選択性をもつことが知られており、Flu が CZP の効果を抑制する点を考えると、MA 行動感作獲得に対する CZP の抑制効果は benzodiazepine 受容体を介していることが示唆される。さらに、benzodiazepine 受容体は GABAA 受容体と複合体を形成し作用を発現する。そのため、GABAA 受容体を介した神経伝達系の促進が行動感作獲得の抑制に関連していると推測される。

腹側淡蒼球と側坐核の GABA 系神経は腹側被蓋野に投射しており、腹側被蓋野は中脳—皮質辺縁系ドーパミン神経系の細胞体が存在し、行動感作獲得について重要な役割をもつことが推測されている。しかし、腹側被蓋野のドーパミン神経細胞体には主に GABAB 受容体が存在していると考えられており、GABAB 受容体作動薬の腹側被蓋野への局所投与が行動感作獲得を抑制したという報告も認められる。そのため、CZP が直接的に腹側被蓋野に作用し行動感作獲得を抑制したとは考えにくい。

一つの可能性として、CZP は前頭葉皮質の GABA-benzodiazepine 受容体に作用し、行動感作獲得を抑制したと推測することが出来るかもしれない。GABAA 受容体作動薬である 4, 5, 6, 7-tetrahydroisoxazolo[5, 4-c]pyridin-3-ol (THIP) の前頭葉皮質への局所

投与が、マウスにおける amphetamine 全身投与により生じる行動感作の獲得を抑制したと報告も認められている。しかし、THIP それ自身も線条体への局所注入では常同行動を生じ、線条体では GABA_A 受容体拮抗薬の bicuculline 局所投与が、行動感作獲得を抑制するとも報告されており、これらの知見から、GABA-benzodiazepine 受容体は脳のそれぞれの部位で異なった役割を果たしている可能性が推測される。いずれにしても、今後 CZP の脳内局所投与が正確な作用部位の推定に必要と考えられる。

最後に、MA 行動感作発現過程に及ぼす benzodiazepine 作動薬の影響について検討した。MA 反復処置群は生食反復処置群と比べ運動量が有意に増加していた。これは、行動感作が形成され、かつ MA 再投与時に行動感作が発現していることを示している。さらに、MA 反復処置群では MA 再投与時に CZP (1mg/kg) を前処置しても運動量の増加に有意な変化は認められなかった。つまり、CZP は MA 行動感作の発現は抑制しないと考えられる。

動物における行動感作の成立は、覚醒剤精神病の症状に対応する現象である。したがって、本研究の結果は覚醒剤乱用開始から精神症状の発現にいたる過程において、GABA-benzodiazepine 系の関与を示唆するものである。また他の報告をも考慮すれば、精神症状の発現にも複数の伝達物質系を含む神経回路網の変化を想定すべきかもしれない。現在、精神分裂病の生物学的仮説は、ドーパミン神経終末部に注目する初期の段階から、認知記憶障害や縦断面的経過を考慮に入れた、より精密なものが求められる段階となっている。動物モデルにおいて GABA-benzodiazepine 系の関与を示す本研究結果は、精神分裂病の理解にも示唆を与えるものと言えよう。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 小 山 司
副 査 教 授 菅 野 盛 夫
副 査 教 授 吉 岡 充 弘

学 位 論 文 題 名

覚醒剤精神病モデルラットにおける gamma-aminobutyric acid (GABA)-benzodiazepine 神経伝達系の役割について

覚醒剤精神病は、その臨床的特徴の類似性から精神分裂病の病態モデルとして注目されている。一方、覚醒剤を実験動物に反復投与すると運動増強作用や常同行動惹起作用が次第に増強し、休薬後にも過敏性が長時間持続し、覚醒剤再投与によって増強反応を示す。この現象は行動感作 (Sensitization) と呼ばれ、動物における行動感作のメカニズムの研究は、覚醒剤精神病的解明に有益であり、さらには精神分裂病の理解にも寄与するものと期待される。行動感作は脳内の可塑的変化を基盤に持つものと思われ、学習やキンドリングあるいは長期増強 (Long Term Potentiation) などと類似する側面を有する。すなわち、いずれの現象も反復刺激によって形成され、N-methyl-D-aspartic acid (NMDA) 受容体拮抗薬やムスカリン性アセチルコリン受容体阻害薬、タンパク合成阻害薬などによって形成が抑制される。このような現象的、薬理的な共通性を考慮すると、学習やキンドリングに対して抑制的に働く薬剤が、どのような作用を示すかを検討することは意義のあることである。抑制性神経伝達物質である GABA-benzodiazepine 作動薬は、学習やキンドリングに対し抑制的に働くことが知られており、臨床的に精神分裂病の病態にも GABA-benzodiazepine 系はある程度関与していると推定されている。本研究では、抑制性神経伝達物質である GABA-benzodiazepine 受容体複合体に作用点を持つ benzodiazepine 系薬剤を用い、精神分裂病のモデルでもある覚醒剤精神病モデル動物を対象に、運動増強作用を指標として行動感作に対する影響を検討した。

実験には 190~270g の Wistar-King 系雄性ラットを使用し、投与後の行動は視察的観察あるいは、赤外線センサーを用い運動量を測定した。使用薬剤はすべて皮下投与を行い、methamphetamine (MA)、benzodiazepine 作動薬は clonazepam (CZP)、benzodiazepine 拮抗薬は flumazenil (Flu) を使用した。はじめに、MA 行動感作獲得過程に及ぼす benzodiazepine 作動薬の影響について検討した。MA (1mg/kg) の投与を 10 日間反復して受けたラットは、生食反復処置を受けた群と比較して、7~8 日間の休薬期間において MA 1mg/kg を皮下投与した際の運動量が有意に増加していた。そのため行動感作が形成されていたが、CZP を併用反復処置すると、CZP は行動感作獲得を用量依存性に抑制した。次に、MA 行動感作獲得過程に及ぼす benzodiazepine 拮抗薬の影響につい

て検討したが、Flu は MA 行動感作獲得過程は抑制しなかった。そこで、benzodiazepine 作動薬の MA 行動感作獲得過程抑制効果に及ぼす拮抗薬併用投与の影響について検討してみると、MA 反復処置により、行動感作は形成されていたが、CZP (0.5mg/kg) を併用反復処置すると、行動感作獲得を抑制していた。さらに、CZP+MA 反復処置に際し、FLU (10mg/kg) を併用投与すると、MA 反復処置群との間には有意な変化は認められなかった。これらの結果より、FLU (10mg/kg) は CZP (0.5mg/kg) の行動感作獲得抑制効果を阻止したと考えられた。最後に、MA 行動感作発現過程に及ぼす benzodiazepine 作動薬の影響について検討したが、CZP は MA 行動感作の発現は抑制しなかった。

以上の発表に際し、質問を受け解答した。まず、吉岡教授よりラットの行動感作獲得と成育過程との関係について質問を受けた。一般には出生後ある一定の期間は行動感作獲得がされない点を文献を引用の上で解答し、発達過程との関連性について説明した。さらに、GABAA 作動薬の行動感作への影響について質問を受けた。GABAA 作動薬の脳内局所投与により、行動感作の獲得が抑制されるという文献を引用し、その行動感作獲得への影響について説明したが、一方で全身投与の場合には手技的な問題点が多い点について説明した。次ぎに、菅野教授より、今回の結果と臨床症状、特に精神分裂病への影響について質問をうけた。動物における行動感作の成立は、覚醒剤精神病の症状に対応する現象であり、したがって、本研究の結果は覚醒剤乱用開始から精神症状の発現にいたる過程において、GABA-benzodiazepine 系の関与を示唆するものである点について説明した。さらに、その縦断面での類似性から、benzodiazepine 作動薬の精神分裂病における再発や再燃の予防に可能性について説明した。

本研究の成果は精神分裂病のモデルでもある覚醒剤精神病モデル動物を対象に、運動増強作用を指標とした行動感作における GABA-benzodiazepine 系の関与を示唆するものであり、今後、精神分裂病の病態メカニズムを解明するうえで役立つことが期待される。審査員一同は、これらの成績を高く評価し、申請者が博士 (医学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。