

## 学 位 論 文 題 名

## Conditioned fear stress に対する反応性に及ぼす

## メタンフェタミンの影響に関する研究

## 学位論文内容の要旨

覚醒剤の長期乱用により妄想型の精神分裂病に酷似した精神症状が出現し、抗精神病薬がその治療薬として奏効することはよく知られている。幻覚妄想などの精神症状を呈するようになった覚醒剤中毒者が、覚醒剤使用を中止し寛解状態が長期に持続していても、覚醒剤の再使用のみならず、情動ストレス、環境変化によって、精神症状の再燃がみられることもよく経験されることである。一方、精神分裂病においても生活の上での危機的状況が、発病や再発の誘因となることから、覚醒剤精神病が情動ストレスにより再燃することの生物学的基盤を解明することは、精神分裂病の成因を知る上で重要であると思われる。

本研究では、覚醒剤を投与した動物の情動ストレスに対する反応性の変化を検討する目的で、メタンフェタミン (Methamphetamine、以下MAと略) の反復投与がその後のconditioned fear stress (CFS)に対する反応に及ぼす影響をラットを用いて検討した。CFSは電撃ストレスによって条件付けられたラットを一定時間後、電撃を加えた装置に再び置く操作によって惹起される。CFSは心理的ストレスと考えられ、freezing behavior、脱糞、排尿、立毛などの変化が観察されることから恐怖、不安のモデルとされている。

Wistar-King系雄性ラット(200~250g)を対象とした。MAは次の3群の投与スケジュールで反復投与した。すなわち1日2回、低用量群は1回量1.25、2.5、3.75、5 mg/kg、中等量群は1回量2.5、5、7.5、10 mg/kg、高用量群は1回量5、10、15、20 mg/kgと順次増量し、隔日で皮下投与した。対照として生理的食塩水(1 ml/kg)を、同様に1日2回、隔日で皮下投与したラットを用いた。MA最終投与後5日間の休薬期間をおいてから、1日1セッション30分間の電撃ストレスを2日間(計2セッション)負荷し、ショック箱への条件付けを行った。1つのセッションでは、ラットをホームケージからショック箱に移し0.2 mA、30秒間の電撃を変動間隔平均60秒で30回負荷した。最終電撃ストレスの24時間後に同じショック箱に再び戻し、電撃ストレスを加えずに静置し(CFS)、freezing behaviorの観察を行った。

行動薬理学的検討では、MA低用量投与群のスケジュールを用い、毎回のMA投与30分前に、それぞれSCH23390 (ドーパミンD<sub>1/5</sub>受容体アンタゴニスト、0.5mg/kg)、nemonapride (D<sub>2/3/4</sub>受容体アンタゴニスト、1 mg/kg)、raclopride (D<sub>2/3</sub>受容体アンタゴニスト、3 mg/kg)を皮下に、amfonelic acid (ドーパミン再取り込み阻害薬、0.5 mg/kg)、fluoxetine (セロトニン再取り込み阻害薬、10 mg/kg)、MK-801 (非競合的

NMDA受容体アンタゴニスト、0.5 mg/kg)を腹腔内に投与しCFS負荷時の行動に及ぼす影響を検討した。

神経化学的検討では電撃ストレスおよびCFS負荷時の脳内ドーパミン (DA) 代謝の変化を検討した。MAは低用量群のスケジュールで反復投与した。電撃ストレスによる条件付けの過程での変化をみた実験では、2日目の電撃ストレスを負荷した直後に断頭し脳内各部位のDA、3,4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC)、homovanilic acid (HVA) 含量を電気化学検出器付高速液体クロマトグラフィーにより測定した。対照は電撃ストレスを加えずショック箱に静置した後断頭したラットを用いた。CFS負荷時の脳内DA代謝の変化を検討した実験では、CFSを20分間負荷した直後に断頭した。対照には電撃ストレスによる条件付けは行ったがCFSは負荷せず直接ホームケージから断頭したラットを用いた。

5分間のCFS負荷によってMA低用量投与群では生食投与群に比べてfreezing behaviorが有意に増強して出現したが ( $P<0.01$ )、MA中等量投与群、高用量投与群では生食投与群と有意な差をみとめなかった。この結果から、以下の行動薬理学的および神経化学的実験ではMA低用量群の投与スケジュールを用いた。

MA反復投与により惹起されるfreezing behaviorの増強は、nemonaprideのMAとの併用反復投与により抑制されたが ( $P<0.05$ )、SCH23390、raclopride、amfonelic acid、fluoxetine、MK-801の併用反復投与では抑制されなかった。いずれの向精神薬の単独反復投与もfreezing behaviorの出現に影響を及ぼさなかった。

電撃ストレスによりDOPAC、HVA含量はMA投与群、生食投与群ともに内側前頭前野、扁桃体で有意な増加がみられた。線条体のHVA含量はMA投与群では電撃ストレスにより増加したが、生食投与群では電撃ストレスによる増加はみられなかった。また、MA投与群では、内側前頭前野のDOPAC、HVA含量が電撃を加えずにショック箱に静置しただけでも生食投与群に比べ有意に増加していた。

CFSによりDOPAC含量は生食投与群、MA投与群ともに内側前頭前野、側坐核、扁桃体で有意に増加した。HVA含量は、CFSにより生食投与群、MA投与群ともに内側前頭前野、側坐核、線条体、扁桃体で有意に増加した。線条体でのCFSによるHVA含量の増加はMA投与群で生食投与群に比べ有意に増大していた。

MAを反復投与したラットではCFS負荷時のfreezing behaviorの出現が増強したことから、MA投与によって心理的ストレスに対する反応性が亢進し、不安、恐怖が増大することが示唆された。このような不安、恐怖の増大は高用量のMA反復投与では出現しなかったことから、覚醒剤精神病あるいは精神分裂病の不安症状やストレス脆弱性に対する動物モデルとしては低用量のMA反復投与モデルが適していることが示された。行動薬理学的検討では、D<sub>2/3/4</sub>受容体アンタゴニストであるnemonaprideによってMAによるfreezing behaviorの増強が拮抗されたことから、このMA反復投与によるストレスに対する行動の変化はD<sub>2/3/4</sub>受容体 (なかでもD<sub>4</sub>受容体) を介している可能性が示された。脳内DA代謝物の変化を検討した神経化学的実験から、内側前頭前野、線条体でのDA神経系のストレスに対する反応性がMA反復投与により変化することが示唆された。これらの変化がCFS負荷時にfreezing behaviorが増強した機序と関連している可能性が考えられた。

最近、精神分裂病の脆弱性—ストレスモデルが提唱され、精神分裂病の発症、再燃におけるストレスの役割が注目されている。本研究は、このような観点から、精神分裂病の発症機序を解明するための一つのモデルを提示することを意図した。今後、動物モデル研究が進むとともに、臨床的知見が集積することにより、精神分裂病におけるストレスの役割に関する研究がさらに発展することが期待される。

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 小 山 司  
副 査 教 授 本 間 研 一  
副 査 教 授 吉 岡 充 弘

学 位 論 文 題 名

## Conditioned fear stress に対する反応性に及ぼす

### メタンフェタミンの影響に関する研究

覚醒剤精神病は症状、治療薬に対する反応性、経過の面での類似性から精神分裂病の病態モデルとして考えられてきた。近年、脆弱性一ストレスモデルが提唱され、精神分裂病の発症、再燃に対するストレスの役割が注目されている。本研究では、覚醒剤を投与した動物の情動ストレスに対する反応性の変化を検討する目的で、メタンフェタミン (MA) の反復投与がその後のconditioned fear stress (CFS) に対する反応に及ぼす影響をラットを用いて検討した。

MAは1日2回、低用量群は1回量1.25、2.5、3.75、5 mg/kg、中等量群は1回量2.5、5、7.5、10 mg/kg、高用量群は1回量5、10、15、20 mg/kgと順次増量し、隔日で皮下投与した。MA最終投与後5日間の休業期間をおいてから、1日1セッション30分間の電撃ストレスを2日間負荷しショック箱への条件付けを行った。最終電撃ストレスの24時間後に同じショック箱に再び戻し電撃ストレスを加えずに静置し (CFS)、freezingの観察を行った。

MAを低用量群のスケジュールで反復投与したラットではCFS負荷時のfreezingの出現が増強したことから、MA投与によって心理的ストレスに対する反応性が亢進し、不安、恐怖が増大することが示唆された。このような不安、恐怖の増大は高用量のMA反復投与では出現しなかったことから、覚醒剤精神病あるいは精神分裂病の不安症状やストレス脆弱性に対する動物モデルとしては低用量のMA反復投与モデルが適していることが示された。行動薬理的検討では、D<sub>2/3/4</sub>受容体アンタゴニストであるnemonaprideによってMAによるfreezingの増強が拮抗されたことから、MA反復投与によるストレスに対する行動の変化はD<sub>2/3/4</sub>受容体を介している可能性が示された。脳内ドーパミン (DA) 代謝物の変化を検討した神経化学的実験から、内側前頭前野、線条体でのDA神経系のストレスに対する反応性がMA反復投与により変化することが示唆された。これらの変化がCFS負荷時にfreezing behaviorが増強した機序と関連している可能性が考えられた。

質疑応答では、吉岡教授から、MAの投与方法の意味、低用量群のスケジュールで行動感作は起こるか、透析法でDAの放出の変化をみた報告はあるか、という質問があった。

これに対して申請者は、行動感作については一般的にある程度間隔をあけて投与した方が起こりやすいとされていること、中等量群やより低い用量のMAの連日投与では行動感作が起こることを確認していることから低用量群でも行動感作が起こる可能性が高いこと、透析法を使った実験では以前に当精神医学教室でMAを反復投与したラットの線条体でMA投与時のDAの放出が亢進することを確認していることを解答した。次いで本間教授から、DA再取り込み阻害薬でfreezingの増強が抑制されなかった機序、CFSで時間経過とともにfreezingが減少していく意味、電撃ストレスとCFS負荷時の脳内DA代謝の違い、MA低用量群と高用量群で違いがでた機序、MAによる睡眠・覚醒リズムへの影響について質問があった。これに対して申請者は、DA再取り込み阻害薬は再取り込み部位に対するMAの作用を阻害するがMAは拡散によっても細胞内に取り込まれること、CFSにおいては時間経過とともに条件付けられた不安が消去されていくこと、一般的に電撃ストレスの方がCFSよりストレス強度が高くDA代謝の亢進の度合いは大きいこと、高用量のMAを反復投与すると線条体でのDAとその代謝物の含量が減少するがストレス負荷時の変化はこれまで検討されていないこと、日内リズムに及ぼす影響はMAの投与量で変化すると思われるが今回は検討していないことを解答した。次いで小山教授からMA低用量群でfreezingが増強し不安が増大したことの機序について質問があった。申請者は今回の研究は主に覚醒剤精神病や精神分裂病の不安症状やストレス脆弱性に対するモデルを作成することが目的であったため、その機序の詳細については今後の検討課題であることを解答した。

この論文は従来から覚醒剤精神病の動物モデルとされてきた行動感作モデルでは不十分であった不安症状やストレス脆弱性についてのモデルを確立したという点で高く評価され、今後の精神分裂病の発症、再燃におけるストレスの役割に関する研究に大きく寄与することが期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院研究科における研鑽と併せ申請者が博士（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。