



The effects of dentate granule cell destruction on behavioral activity and Fos protein expression induced by systemic MDMA in rats

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-31 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 元, 武俊 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/1258">http://hdl.handle.net/10271/1258</a>

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 405号	学位授与年月日	平成15年 5月23日
氏 名	元 武 俊		
論文題目	<p>The effects of dentate granule cell destruction on behavioral activity and Fos protein expression induced by systemic MDMA in rats  (MDMA の全身投与により誘発されるラットの移所行動量増加と Fos 蛋白質発現に及ぼす海馬顆粒細胞破壊の効果)</p>		

博士 (医学) 元 武 俊

## 論文題目

The effects of dentate granule cell destruction on behavioral activity and Fos protein expression induced by systemic MDMA in rats

(MDMA の全身投与により誘発されるラットの移所行動量増加と Fos 蛋白質発現に及ぼす海馬顆粒細胞破壊の効果)

## 論文の内容の要旨

### 〔はじめに〕

海馬歯状回の顆粒細胞は嗅内皮質より入力を受けている。歯状回顆粒細胞に入力された情報は、CA3 と CA1 の錐体細胞を経て海馬台へと伝達され、海馬台からは側坐核、背側線条体、中隔野、新皮質などへ投射する。先に、我々はコルヒチンでラットの歯状回顆粒細胞を破壊し、メタンフェタミンを全身投与したところ、メタンフェタミンによるラットの移所行動が著しく増強した。メタンフェタミンはドパミンの放出を増大させることから、歯状回顆粒細胞はドパミンを介する行動異常を制御していることが示唆された。

3,4-メチレンジオキシメタンフェタミン(MDMA)はメタンフェタミンの誘導体で、その全身投与によりラットの移所行動量が増加することが知られている。この行動異常は主として、セロトニンの放出が増大することによると考えられている。本研究において、我々はコルヒチンをラットの海馬内に注入して歯状回顆粒細胞を破壊した。続いて、MDMA を全身投与して移所行動量を測定し、同時に、セロトニンの投射を受けている幾つかの脳部位で Fos 蛋白質の発現量を調べた。

### 〔材料ならびに方法〕

Sprague-Dawley 系雄性ラット (250 g ~ 300 g) を A、B、C の 3 群に分けた。A 群(n=24)は何の処置も行わない群、B 群(n=34)は背側海馬と腹側海馬にコルヒチンの溶媒(生理食塩水)の両側注入を受けた群、C 群(n=32)は背側海馬と腹側海馬にコルヒチンの両側注入を受けた群である。生理食塩水とコルヒチンの各部位の注入量は  $0.5 \mu\text{l}$  で、コルヒチンは各部位に  $2.5 \mu\text{g}$  の用量で注入した。注入から 2 週間後、ラットを観察用ケージ内に置き、生理食塩水または MDMA(2、5、10mg/kg)を  $1\text{ml/kg}$  の容量で皮下注射し、90 分間の移所行動量を測定した。MDMA は生理食塩水に溶解した。行動評価後、ラットを灌流固定して脳を取り出し、前額断連続切片を作成し、内側前頭前野、後外側前頭前野、前側帯状皮質、梨状葉、背側線条体、側坐核中核部、側坐核被殻部の Fos 蛋白質の発現量を調べた。

### 〔結果〕

組織学的検索の結果、C 群の海馬歯状回の顆粒細胞はほぼ完全に破壊されていた。A、B、C の 3 群に生理食塩水を投与すると、C 群の移所行動量は A 群に比して有意に増加し( $p=0.01$ )、また、B 群に比し増加傾向を示した ( $p=0.055$ )。A、B、C の 3 群に MDMA を 2、5、10mg/kg の用量で投与すると、C 群の移所行動量はいずれの用量においても、A 群(2mg/kg では  $p<0.01$ 、

5mg/kg では  $p < 0.001$ 、10 mg/kg では  $p < 0.001$ ) と B 群(2mg/kg では  $p < 0.01$ 、5mg/kg では  $p < 0.001$ 、10mg/kg では  $p < 0.001$ ) よりも有意に増加した。

生理食塩水投与後のFos発現量をA、B、C群で測定したところ、C群の側坐核中核部でのみ有意な増加が認められた(A群に対して  $p < 0.002$ 、B群に対して  $p < 0.002$ )。MDMAを投与後のFos発現量は、いずれの投与量においても、C群の側坐核中核部でのみ有意な増加が認められた(2 mg/kgではA群に対して  $p < 0.001$ 、B群に対して  $p < 0.001$ ；5mg/kgではA群に対して  $p < 0.001$ 、B群に対して  $p < 0.001$ ；10 mg/kgではA群に対して  $p < 0.05$ 、B群に対して  $p < 0.05$ )。

A群とB群の間には、移所行動量やFos発現量に有意な差は認められなかった。

#### 〔考察〕

本研究から、MDMA投与による移所行動量は歯状回顆粒細胞の破壊により著しく増強されることが示された。また、顆粒細胞破壊後にMDMAを投与すると側坐核中核部のFos蛋白質発現が有意に増加した。過去の報告によれば、側坐核にMDMAを局所投与すると移所行動が増強し、側坐核を破壊するとMDMAによる移所行動の増強作用が減弱するという。これらの報告を勘案すると、本研究においては、顆粒細胞の破壊により側坐核中核部に機能変化がもたらされ(側坐核中核部のみでのFos蛋白量の増加)、そのことにより、MDMA誘発性の移所行動が増強したものと推測される。

本研究では、顆粒細胞を破壊すると、生理食塩水のみでの投与でも移所行動量が増加し、Fos蛋白質の発現も側坐核中核部で増加していた。側坐核中核部は背側海馬台から投射を受け、背側海馬台の破壊は側坐核中核部の興奮性を高めることが知られている。歯状回顆粒細胞破壊はこのような経路に影響を与えた可能性がある。

#### 〔結論〕

コルヒチンによる海馬歯状回の顆粒細胞破壊はMDMAのみならず生理食塩水投与後の移所行動量も増加させた。また、顆粒細胞破壊後にMDMAや生理食塩水を投与すると、側坐核中核部でのみFos蛋白質の発現が増大した。これらの結果から、側坐核中核部はMDMAのみならず、ストレス負荷(生理食塩水)によって誘発される移所行動の増強に関与していることが示唆される。

### 論文審査の結果の要旨

海馬は、学習・記憶の処理に重要な役割を果たしていることは良く知られているが、側坐核を介する移所行動の調節にも関与している。すなわち、海馬を破壊するとストレスおよびメタンフェタミン誘発性の移所行動が増加し、また、側坐核のドーパミン遊離が増強される。さらに、この効果は側坐核の破壊により消失する。これらのことから、海馬から側坐核に投射する遠心性の線維がドーパミン遊離を抑制することにより、移所行動を抑制的に調節することが推定されている。しかしながら、側坐核にはドーパミンだけでなくノルアドレナリンやセロトニンの投射もあり、またメタンフェタミンはこれらのモノアミンのすべてに作用することから、セロトニンやノルアドレナリンもまた移所行動の調節に関与する可能性がある。そこで、申請者らは、メタンフェタミンの誘導体でセロトニンニューロンにより強く作用する乱用薬物3, 4-メチレン

ジオキシメタンフェタミン(MDMA)が海馬損傷後の移所行動にいかなる効果を及ぼすかを調べた。また、セロトニン作動性神経が投射する脳部位のFos蛋白発現に対するMDMAの効果についても検討した。

対象の選定と方法は以下の通りである。

Sprague-Dawley系雄性ラットをA、B、Cの3群に分けた。A群のラットには何も処置しなかった(無処置群;n=24)。B群のラットには背、腹側海馬にコルヒチンの溶媒(生理食塩水)のみを両側性に投与した(偽海馬破壊群;n=34)。C群のラットには背、腹側海馬にコルヒチン溶液(5  $\mu$ g/0.5  $\mu$ l)を両側性に投与した(海馬破壊群;n=32)。投与から2週間後に、SCANET SV-10装置を用いて、MDMA誘発性移所行動を90分間測定した。MDMA(2, 5, 10mg/kg)は生理食塩水に溶かして皮下(1 ml/kg)に投与した。さらに、行動測定終了30分後に脳を取り出し、連続切片を作成して、側坐核を含む7つの脳部位におけるFos蛋白の発現量を測定した。

おもな結果は以下の通りである。

- (1) 生理食塩水は海馬破壊群の移所行動量を有意に増加させた。
- (2) MDMA(2,5,10 mg/kg)は3群の移所行動量を用量依存的に増加させた。また、海馬破壊群の移所行動量は、いずれの用量においても、他の2群を有意に上回った。
- (3) 生理食塩水は海馬破壊群の側坐核中核部における Fos 蛋白発現量のみを有意に増加させた。
- (4) MDMA(2, 5, 10mg/kg)は、3群共に、いずれの脳部位においてもFos発現量を用量依存的に増加させた。また、海馬破壊群の側坐核中核部のFos発現量は他の2群を有意に上回った。残りの脳部位のFos発現量には3群間で差はなかった。

申請者はこれらの結果に基づいて、側坐核中核部を介する移所行動のストレスやMDMAに対する反応を海馬(歯状回の顆粒細胞)は抑制的に調節すると結論している。

これに対し審査委員会では、本研究がセロトニンニューロンに主作用を有する乱用薬物MDMAにより誘発される移所行動と海馬側坐核調節系の関係を初めて明らかにしたものであり、モノアミン(セロトニン)系の異常を原因の一つとする神経・精神疾患の複雑な背景機序の解明のための基礎的知見を提供するものと高く評価された。

本論文の審査過程において、主として次のような質疑が行われた。

- 1) 破壊法にコルヒチンを用いた理由は
- 2) コルヒチンが海馬の顆粒細胞を選択的に破壊するのはなぜか
- 3) コルヒチンによる細胞破壊効果のタイムコースは
- 4) MDMAのセロトニン神経に対する作用はトランスポーター阻害だけか
- 5) MDMAは常同行動を誘発するか
- 6) MDMAによる行動効果は海馬破壊後の期間により影響を受けるか
- 7) 側坐核中核部のFos陽性細胞のトランスミッターは何か
- 8) ニューロン活動の形態学的指標としてFos蛋白以外にどんなものがあるか
- 9) MDMA投与後の側坐核ドーパミンとセロトニンの細胞外濃度の変化はどうなるか

論文審査担当者 主査 中 原 大 一 郎  
副査 梅 村 和 夫 副査 浦 野 哲 盟