



The effects of hippocampal granule cell
destruction on locomotor activity and Fos protein
expression after methamphetamine
administration to rats

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-29 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 谷, 邦彦 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1146

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 293号	学位授与年月日	平成11年 3月26日
氏 名	谷 邦 彦		
論文題目	The effects of hippocampal granule cell destruction on locomotor activity and Fos protein expression after methamphetamine administration to rats (メタンフェタミンによる移所行動と Fos 蛋白質発現に及ぼす海馬顆粒細胞破壊の影響)		

博士(医学) 谷 邦彦

論文題目

The effects of hippocampal granule cell destruction on locomotor activity and Fos protein expression after methamphetamine administration to rats

(メタンフェタミンによる移所行動とFos蛋白質発現に及ぼす海馬顆粒細胞破壊の影響)

論文内容の要旨

〔はじめに〕

覚せい剤をラットに投与すると移所行動量が増加する。この移所行動量増加に係わる神経機構の解明は覚醒剤精神病の発現機序に重要な手がかりを与えると考えられているが、その詳細はなお不明である。本研究において、我々は覚醒剤としてメタンフェタミン(MAP)を用い、MAPにより誘発されたラットの移所行動量増加が海馬顆粒細胞の破壊によりどのような影響を受けるかを検討した。さらに、顆粒細胞破壊後にMAPを投与して、MAPの作用部位とされる側坐核、線条体、大脳皮質の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(220-240g)を用い、それらを両側破壊群(n=16)、片側破壊群(n=7)、対照群(n=14)の3群に分けた。コルヒチンは生理食塩水に $20\mu\text{g}/\mu\text{l}$ の濃度で溶解した。両側破壊群のラットには、ハミルトンマイクロシリンジを用い、コルヒチン $10\mu\text{g}$ ($0.5\mu\text{l}$)を背側海馬と腹側海馬に両側性に注入した。片側破壊群では、右側の背側海馬と腹側海馬にコルヒチン $10\mu\text{l}$ ($0.5\mu\text{l}$)を、左側の同部位には生理食塩水 $0.5\mu\text{l}$ を注入した。対照群の海馬には生理食塩水 $0.5\mu\text{l}$ を両側性に注入した。2週間後、各群のラットにMAP $2\text{mg}/\text{ml}/\text{kg}$ を腹腔内投与した。移所行動量はSCANET SV10(東洋産業(株))を用いて測定し、同時にビデオ撮影を行って回転運動を記録した。観察終了後、すべてのラットを灌流固定して脳を取り出し、ビブリオトームで切片を作製後、Fos蛋白質の免疫染色を行った。続いて、内側前頭前野、帯状皮質、梨状葉、線条体、側坐核に発現したFos蛋白質をNIH imageを用いて定量した。また、cresyl violet染色により顆粒細胞の破壊の程度を観察した。

〔結果〕

コルヒチンを注入した海馬の顆粒細胞はほぼ完全に破壊され、海馬全体が萎縮していた。生理食塩水を注入した海馬には萎縮や細胞の脱落はみられなかった。両側破壊群にMAPを投与すると、対照群に同様の処置をした場合に比し、移所行動量が有意に増加していた。一方、片側破壊群と対照群の間には、MAP投与後の移所行動量に有意差はなかった。しかし、片側破壊群では破壊側の反対方向(左側方向)への著明な回転運動が観察された。

両側破壊群にMAPを投与した後のFos蛋白質の発現は、対照群に同様の処置をした場合に比し、検索したすべての脳部位(内側前頭前野、帯状皮質、梨状葉、線条体、側坐核)で有意に増強していた。また、片側破壊群へのMAP投与後には、対照群へのMAP投与後に比し、破壊側の線条体、側坐核、梨状葉、および、両側の内側前頭前野と帯状皮質においてFos蛋白質の発現が有意に増強していた。

〔考察〕

本研究の結果から、海馬顆粒細胞はMAP誘発性移所行動に対し抑制的に作用していることが示唆さ

れる。さらに、破壊側と反対方向への回転運動は破壊側の顆粒細胞を介する移所行動への抑制が解除されたためであると考えられる。

一方、Fos蛋白質の発現様式から、両側顆粒細胞破壊後のMAP誘発性移所行動量の増加には、内側前頭前野、帯状皮質、梨状葉、線条体、側坐核の神経活動亢進が関与していることが示唆される。

片側破壊群のFos蛋白質発現は、両側破壊群におけるのと同様、内側前頭前野と帯状皮質では両側に増強していたが、線条体、側坐核、梨状葉では、破壊側においてのみ増強していた。この結果から、内側前頭前野と帯状皮質は、顆粒細胞を介するMAP誘発性移所行動の制御には必須の役割を担っていないと考えられる。これに対し、線条体、側坐核、梨状葉はMAP誘発性移所行動の発現に重要な役割を果たしていることが示唆される。

〔結論〕

両側海馬顆粒細胞を破壊したラットではMAP誘発性の移所行動は増強し、Fos蛋白質の発現も内側前頭前野、帯状皮質、梨状葉、線条体、側坐核において両側に増強していた。一方、片側海馬顆粒細胞を破壊したラットにおいてはMAP投与後に破壊側と反対方向への回転運動が認められ、Fos蛋白質の発現は、線条体、側坐核、梨状葉においては片側性(破壊側)に、内側前頭前野、帯状皮質においては両側に増強していた。これらから、海馬顆粒細胞破壊ラットにおけるMAP誘発性行動の変化は、主に線条体、側坐核、梨状葉の神経活動の亢進が関与していることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

覚醒剤の常用により起こる精神病患者の行動異常に関する発症機序の詳細は、まだ明かでない。そこで、申請者はその機序を実験的に解明するため、間接的ドーパミンアゴニストとして知られる覚醒剤の1つメタンフェタミン(methamphetamine; MAP)をラットに投与して移所行動の増加を誘発させ、海馬顆粒細胞の破壊の影響を検索し、さらにMAPの作用部位と考えられている側坐核、線条体、大脳皮質等におけるFos蛋白質の発現に対するMAPの作用を追及した。

口頭発表に際し審査委員会では次の点が評価された。

- 1) 本研究で用いられた材料、および方法は、本研究目的を解明する上で適切であると判断された。すなわち、成熟雄SDラットを用い、麻酔後定位固定器に固定しコルヒチン(10 μ g)を両側或いは片側の海馬(背側と腹側)に注入することにより、海馬領域を破壊し、両側破壊群と片側破壊群を準備した。Sham対照群には生理的食塩水を同様に注入した。破壊の程度はcresyl violet染色により観察した。2週後に各群にMAP(2mg/ml/kg 体重)を腹腔内に投与した。ラットの移所行動はSCANET SV10を用いて測定し、ビデオ撮影をおこなって回転運動を記録した。パラホルムアルデヒド灌流固定した脳の切片標本を抗Fos抗体を用いた間接的免疫組織化学的染色法で染色し、Fos蛋白質の発現を検索した。
- 2) コルヒチン注入による海馬破壊の程度を組織学的に観察したところ錐体細胞の軽度の破壊が認められたが、顆粒細胞はほぼ完全に破壊され、海馬全体が萎縮していた。一方、生理的食塩水注入では組織学的変化は認められなかった。これらの所見から、申請者はコルヒチンにより海馬顆粒細胞をほぼ完全に破壊したと判断している。
- 3) 両側破壊群での移所行動量はMAP投与により対照群と比べ有意に増加した。なお、片側破壊群と対照群の間には移所行動量に有意の差はみられなかった。回転運動は片側破壊群では破壊側の反対方向(左側)への運動が著明に増加した。申請者は、破壊側と反対方向への回転運動が増加した理由とし

て、破壊側の海馬顆粒細胞を介する移所行動に対する抑制が解除されたためであると考察している。

4) Fos 蛋白質の発現については、両側破壊群への MAP 投与により検索したすべての脳の部位(内側前頭前野、帯状皮質、梨状葉、線条体、および側坐核)において、その発現が有意に増強していた。一方、片側破壊群では、破壊側の線条体、側坐核、梨状葉、および両側の内側前頭前野と帯状皮質において、その発現が有意に増強していた。これらの所見から申請者は線条体、側坐核、梨状葉は顆粒細胞を介する MAP 誘導移所行動の発現に関与するが、内側前頭前野と帯状皮質は移所行動の抑制には必須でないと推論している。

以上の結果に対し、審査委員会では、本研究は MAP 誘導移所行動に対して海馬顆粒細胞は抑制的に作用し、尾状核-被殻、側坐核、および梨状葉は増強的に作用する可能性を示唆するものであると考え、MAP誘導移所行動増加の神経機構を解明する上で意義がある内容を備えていると高く評価した。

口答発表の際に、審査委員から次の点が質問された。

- 1) 海馬破壊にコルヒチンを用いた理由と顆粒細胞が破壊される機序について
- 2) 実験群と対照群の検体数に違いが見られた理由
- 3) 実験条件として光環境、嗅い環境、時刻などを考慮したか
- 4) 投与したMAPの量と移所行動誘発との相関について
- 5) Fos蛋白質陽性細胞の定量法の精度と再現性について
- 6) 回転運動の定義とその測定法の妥当性について
- 7) コルヒチン注入により海馬以外の部位が破壊された可能性
- 8) 移所行動量の定量に関する統計的検定法の妥当性について
- 9) MAP投与によるFos蛋白質発現の機構について
- 10) Fos蛋白質の発現だけで神経活動亢進や移所行動増強を証明できるか
- 11) 片側破壊群で破壊側の反対方向への回転運動が亢進した理由について
- 12) 黒質や線条体を破壊し、MAP投与した場合どのような結果が得られると考えるか

これらの質問に対する申請者の解答は概ね適切であり、本研究での問題点を十分把握しており、本論文は博士(医学)の学位論文にふさわしい内容を兼ね備えていると審査委員全員一致で判定した。

論文審査担当者 主査 教授 山下 昭

副査 教授 梅村 和夫 副査 教授 福田 敦夫