



The effects of FK506, a specific calcineurin inhibitor , on methamphetamine-induced behavior and development of sensitization in 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: 塚本, 利雄 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1147

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 294号	学位授与年月日	平成11年 3月26日
氏名	塚本利雄		
論文題目	The effects of FK506, a specific calcineurin inhibitor, on methamphetamine-induced behavior and development of sensitization in rats (ラットにおけるメタンフェタミン誘発行動及び逆耐性形成に及ぼす、特異的カルシニューリン阻害剤、FK506の効果)		

博士(医学) 塚本利雄

論文題目

The effects of FK506, a specific calcineurin inhibitor, on methamphetamine-induced behavior and development of sensitization in rats

(ラットにおけるメタンフェタミン誘発行動及び逆耐性形成に及ぼす、特異的カルシニューリン阻害剤、FK506の効果)

論文内容の要旨

〔はじめに〕

ラットにメタンフェタミン(MAP)を単回投与すると、少量では移所行動量が増加し、大量では常同行動が出現する。また、MAPを反復投与するとMAPに対する反応性が亢進する。この現象は逆耐性現象といわれている。MAPにより誘発されるこれらの行動変化の発現には主にドーパミン神経伝達系の関与が考えられているが、サイクリックAMPやカルシウムを介した細胞内情報伝達系の関与も強く指摘されている。一方、FK506は臨床で広く使用されている免疫抑制剤であるが、その作用機序としてカルシウムにより賦活されるカルシニューリン(CN)の特異的阻害作用が明らかとなっている。すなわち、FK506はCNを阻害して細胞内カルシウム情報伝達系の一部を抑制すると考えられている。そこで、本研究はMAPにより誘発される行動発現に果たすカルシウム-CN情報伝達系の役割を検討するため、MAP単回投与による急性行動変化とMAP反復投与による逆耐性形成に及ぼすFK506の効果を調べた。

〔材料ならびに方法〕

Wistar系雄性ラット(200-220g)を用いた(各群ともn=9)。FK506はTween60に、MAPは生理食塩水に溶解し、それぞれ1 ml/kgの用量で腹腔内投与した。移所行動量の測定にはSCANET SV-10(東洋産業)を用い、90分間の合計量を解析に用いた。また、同時に、10分間おきに1分間ずつAkiyamaら(1982)の行動評価スケールを用いて採点し、90分間の合計点数で常同行動を含む包括的な行動を評価した。

実験1) MAP単回投与による急性行動変化へのFK506の効果。

i) MAP投与による用量依存的行動変化に対するFK506の効果。

Tween60またはFK506 2 mg/kgを腹腔内投与し、その10分後に生理食塩水またはMAP(1、2、4 mg/kg)を腹腔内投与して行動測定した。

ii) MAP投与により誘発される行動変化に対するFK506の用量依存的効果。

Tween60またはFK506(0.1、2、5、10mg/kg)を腹腔内投与し、その10分後にMAP 2 mg/kgを腹腔内投与して行動測定した。

実験2) MAP反復投与による逆耐性形成へのFK506の効果。

ラットをTween60/生理食塩水群、Tween60/MAP群、FK506/生理食塩水群、FK506/MAP群の4群に分けた。投与量は、MAP 2 mg/kg、FK506 2 mg/kgとし、1日1回、5日間連続で投与した。最終投与後7日間の休薬期間において、MAP 1 mg/kgを腹腔内投与して行動測定を行った。(challenge test)。

〔結果及び考察〕

実験1) 1および2 mg/kg MAP投与により移所行動量は用量依存的に増加したが、4 mg/kg MAP投与では1 mg/kg MAP投与時と同程度の移所行動量の増加を示し、ベル型の用量反応様式が観察された。一

方、行動評価スケールではMAP投与に用量依存的な得点の増加が認められた。そして、これらのMAPによる用量依存的行動変化は、FK506の前処置によりいずれのMAP用量においても有意に抑制された。次に、2 mg/kgMAP投与により増加した移所行動量および行動評価スケール得点は、FK506の用量に依存して両者とも有意に低下することが観察された。さらに、FK506はそれ自体では移所行動量および常同行動には影響を与えないことが観察された。これらにより、FK506はMAP単回投与により誘発される急性行動変化を有意かつ用量依存的に抑制することが明らかとなった。

実験2) challenge testにおいては、Tween60/MAP群では、Tween60/生理食塩水群及びFK506/生理食塩水群に比較してMAP再投与により移所行動量・行動評価スケール得点ともに有意に増加していた。すなわち、MAP反復投与により逆耐性現象が形成されることが確認された。一方、FK506/MAP群では、MAP再投与時の移所行動量・行動評価スケール得点とともにTween60/MAP群に比較し有意に減少していた。これらより、MAP反復投与による逆耐性形成はFK506の前処置により有意に抑制されることが明らかとなった。

以上の実験により、FK506はMAP単回投与により誘発される急性行動変化を抑制するとともに、MAP反復投与による逆耐性形成も阻害することが明らかとなった。

〔結論〕

本研究では、MAPにより誘発される急性行動変化及び逆耐性形成をFK506が有意に抑制することが示された。FK506は、特異的なCN阻害作用により細胞内カルシウム情報伝達系の一部を抑制することが知られている。これらから、MAPにより誘発される急性行動変化及び逆耐性形成には、カルシウム-CN情報伝達系の一部が深く関与していることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

動物へのメタンフェタミン(methamphetamine;MAP)投与による急性および慢性の行動変化は、覚醒剤精神病や精神分裂病の病像や経過とよく似ている。それゆえに、脳機能に対するMAPの作用効果を明らかにすることは、精神分裂病の発病と再発のメカニズムを理解する有用な手がかりになると考えられている。

MAPはおもに脳内ドーパミン系の活動を増加させることによりその作用を発現する。すなわち、シナプス前ニューロン側においては、神経終末から(a)ドーパミンを遊離し、(b)再取り込みを妨げ、(c)モノアミン酸化酵素を阻害することにより、シナプス間隙のドーパミンを過剰に増加させる。しかしながら、シナプス後ニューロン側の作用については、受容体の活動を亢進させること以外にはまだよくわかっていない。申請者のグループを含む最近の行動薬理学的研究から、MAP誘発性の行動変化は、2次メッセンジャーcAMPを介する系で抑制され、一方、Ca²⁺を介する系で促進されることが明らかにされた。そこで、申請者は脳内に高濃度に含まれるCa²⁺/カルモジュリン依存性ホスファターゼ(Ca²⁺/calmodulin-dependent phosphatase)であるカルシニューリン(calcineurin;CN)に注目して、MAP誘発性行動変化におけるCa²⁺/CN系の関与の有無を明らかにしようとした。具体的には、CNの特異的阻害薬である免疫抑制剤FK506(タクロリムス)がMAP投与による急性行動変化(移所行動と常同行動)と慢性行動変化(逆耐性形成)にいかなる効果を及ぼすかを調べた。

対象の選定と方法は以下の通りである。

Wistar系雄性ラットを用いた。FK506はTween60に、MAPは生理食塩水に溶かして腹腔内に投与した。

移所行動は SCANET SV-10装置を用いて90分間測定した。常同行動は、Akiyama ら(1982)の行動評価スケールに準じて、90分の間、10分間隔で1分ずつ合計9分間測定した。実験は、(1)MAP 単回投与による急性行動変化に対するFK506の効果と(2)MAP反復投与による逆耐性形成に及ぼすFK506の効果の2つに分けて行った。

おもな結果は以下の通りである。

- (1) MAP は少量(1、2 mg/kg)で移所行動を用量依存的に増加し、大量(4 mg/kg)で常同行動を誘発した。そして、この用量依存的行動は、FK506(2 mg/kg)の前処置(MAP 投与10分前)により有意に抑制された。また、FK506(0.1、2、5、10mg/kg)は MAP(2 mg/kg)によって誘発された行動を用量依存的に抑制した。すなわち、FK506は MAP 単回投与により誘発される行動変化を抑制することが明らかになった。
- (2) Tween60/生理食塩水群、Tween60/MAP(2 mg/kg)群、FK506(2 mg/kg)/生理食塩水群およびFK506/MAP群の4つの薬物投与群を設けて、各々1日1回、5日間連続で投与した。そして、最終投与後7日間の休薬期間を置いて、MAP(1 mg/kg)再投与の効果と比較した。その結果、移所行動と常同行動は、Tween60/生理食塩水群とFK506/生理食塩水群に比し、Tween60/MAP群において有意に増加していた。すなわち、MAP反復投与により逆耐性現象の形成が認められた。しかしながら、Tween 60/MAP 群に比し、FK506/MAP 群では移所行動と常同行動は有意に減少した。すなわち、MAP 反復投与による逆耐性形成はFK506により抑制されることが明らかになった。

申請者はこれらの結果に基づいて、MAPにより誘発される行動発現および逆耐性形成にはCNが一部関与すると結論している。

これに対し審査委員会は、本研究がMAPにより誘発される急性および慢性の行動変化がCa²⁺/CNを介するシグナル伝達系によって促進されることを初めて明らかにしたものであり、覚醒剤精神病の発病・再発に対する機序解明のための基礎的知見を提供するものと高く評価した。

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) 移動行動測定装置の原理
- 2) 移動行動の測定時間を90分とした理由
- 3) MAPの行動効果は昼間と夜間で差があるか否か
- 4) 行動評価に際して、MAPによる回転運動はどのように取り扱ったか
- 5) CN作用薬としてFK506を選んだ理由
- 6) FK506の用量はどのようにして決めたか
- 7) FK506は血液脳関門をどの程度通過するか
- 8) FK506単独投与による行動効果の有無
- 9) シナプス前ニューロンにおけるCa²⁺/CN系活性化の機序
- 10) CNによるシナプシン I 以外の脱リン酸化の影響
- 11) FK506の作用はCa²⁺/CN情報伝達系だけか
- 12) シクロスポリンの行動効果はFK506と類似するか、またラバマイシンの効果は調べたか
- 13) MAPによるドーパミン放出機序
- 14) MAPによるグルタミン酸放出機構
- 15) MAPによるセロトニン系に対する作用の行動への影響

これらの質問に対し申請者の解答は適切であり、問題点も十分理解しており、博士(医学)の学位論文にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者 主査 教授 中 原 大 一 郎

副査 教授 小 出 幸 夫 副査 教授 福 田 敦 夫