



Cocaine enhances response during extinction of intracranial self-stimulation in adult male prenatally stressed rats

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2017-01-18 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 高, 水波 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/793

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 531号	学位授与年月日	平成21年 3月18日
氏 名	高 水 波		
論文題目	Cocaine enhances response during extinction of intracranial self-stimulation in adult male prenatally stressed rats (胎仔期にストレスを受けた成体オスラットの脳内自己刺激における消去時反応はコカインによって増強する)		

博士(医学) 高 水 波

論文題目

Cocaine enhances response during extinction of intracranial self-stimulation in adult male prenatally stressed rats

(胎仔期にストレスを受けた成体雄ラットの脳内自己刺激における消去時反応はコカインによって増強する)

論文内容の要旨

[はじめに]

母親を介して胎児期に受けたストレスは、脳の発達に影響を及ぼし、ヒトでは注意欠陥・多動性障害、社会性の欠如、認知障害、不安及び物質嗜癖障害などの生涯にわたって続く行動変化をもたらすことが示唆されている。これらの行動障害と胎児期ストレスの関係を調べる最も妥当性の高い動物モデルの一つは、妊娠時にストレスを受けた母親ラットの子どもである。これまでの研究により、胎仔期にストレスを受けた成体ラットにおいて、移所活動の亢進、個体間相互作用の低下、モリス水迷路課題における逆転学習障害、高架式十字迷路におけるオープンアームに対する探索反応の減少などヒトと共通する行動変化が観察されているが、物質嗜癖障害の詳しい解析はまだ行われていない。そこで本研究では、ラットの胎仔期ストレスモデルと物質嗜癖に関する代表的研究法の一つである脳内自己刺激法を用いて、コカインに対する脳内報酬系の感受性に及ぼす胎仔期ストレスの効果について調べた。

[材料ならびに方法]

SD系妊娠母親ラット27匹から産まれた雄のラット70匹を用いた。内訳は、ストレスを受けた母親14匹から産まれた仔ラット38匹(胎仔期ストレス群)と正常母親13匹から産まれた仔ラット32匹(コントロール群)である。妊娠13日目から19日目にかけて、胎仔期ストレス群の母親ラットを150Wの白熱灯照明下に置いたBolmanケージで1日3回(10:00, 13:00, 16:00開始、各45分間)拘束した。コントロール群の母親は無処置とした。産まれた仔ラットは生後21日に離乳し、実験開始まで3・4匹で集団飼育した。①コカインの短期作用(脳内報酬系の感受性促進効果)を調べる実験では、生後10週令の胎仔期ストレス群9匹とコントロール群8匹のラットを用いた。麻酔下で刺激電極を内側前脳束に植え込み、術後7・10日目に自己刺激行動を習得させた。典型的な反応パターンを示したラットについて、まず周波数を変えながら、周波数—反応率曲線を求め、薬物投与前のベースラインの報酬閾値を決定した。次いで、コカインを腹腔内投与した。投与量は5種類(2.5, 5, 10, 20, 30 mg/kg)を用意した。薬物投与から数分経過後に再び周波数—反応率曲線を求め、報酬閾値の変化について両群間で比較した。②コカインの長期作用(脳内報酬系の感受性抑制効果)を調べる実験では、生後8週令の胎仔期ストレス群7匹とコントロール群5匹のラットを用いた。①と同様の手続きで典型的な自己刺激反応パターンを示したラットについて、薬物投与前のベースラインの報酬閾値を5日間にわたって測定した。次いで、コカイン20 mg/kgを毎日1回、5日間さらに40 mg/kgを毎日1回、5日間、計10日間にわたって投与し、報酬閾値の変化を両群間で比較した。報酬閾値の測定は薬物投与から24時間後に行った。③自己刺激の消去時反応に対するコカイン効果を調べる実験では、②で使用したラットを用いた。生理食塩水あるいはコカイン10 mg/kg投与下において、10分間の自己刺激再学習後に10分間の消去を行うセッ

ションを3回繰り返し、消去時の反応数の変化を両群間で比較した。④コルチコステロン放出量に対する拘束ストレスの効果を調べる実験では、生後12週令の胎仔期ストレス群22匹とコントロール群19匹を用いた。30分間の拘束ストレスを両群ラットに与えた。無処置、ストレス終了直後あるいは2時間後に断頭により体幹血を採取し、ラジオイムノアッセイによって定量したコルチコステロン量を両群間で比較した。

[結果]

①コカインは、投与直後に測定した場合には、全てのラットにおいて用量依存性に自己刺激報酬閾値を低下させた ($p<0.001$)。しかしながら、コカインによる報酬閾値下降効果に群間差はなかった。②一方、コカインは、投与から24時間後に測定した場合には、全てのラットにおいて報酬閾値を増加させる傾向を示した。しかしながら、コカインによる閾値上昇効果に群間差はなかった。③コカイン慢性投与後の胎仔期ストレス群ラットでは、自己刺激の消去時反応数が生理食塩水投与下に比べコカイン投与下において有意に増加した ($p<0.01$)。④ベースラインのコルチコステロン量には群間差はなかった。拘束ストレスにより、両群ラットにおいてストレス直後のコルチコステロン量が有意に増加した ($p<0.01$)。しかしながら、2時間後のコルチコステロン量には群間差が見られ、コントロール群ではベースラインに戻ったが、胎仔期ストレス群では高値が持続した ($p<0.05$)。

[考察]

コカインによる投与直後の報酬閾値促進効果と投与から24時間後の報酬閾値抑制効果のいずれにおいても、両群間に差が見られなかったことから、胎仔期ストレスは、コカインに対する脳内報酬系の感受性に影響を与えないことが示唆された。一方、コカイン投与下では、自己刺激における消去時反応数が胎仔期ストレス群においてのみ増加したことから、胎仔期ストレスにより報酬性反応の消去抵抗が亢進することが示唆された。また、胎仔期ストレス群では成体になってからの拘束ストレスによりコルチコステロンの放出が長時間にわたって持続したことから、胎仔期ストレスによる視床下部—下垂体—副腎軸のネガティブフィードバックの減弱が示唆された。

論文審査の結果の要旨

母体へのストレスが胎児の脳の発達に影響を及ぼし、ヒトでは成長後も注意欠陥・多動性障害、社会性の欠如、認知障害、不安及び物質依存などの異常をもたらすことが示唆されている。これらの行動障害と胎児期ストレスの関係を調べる適切な動物モデルとしては、妊娠時にストレスを受けた母体から産まれた仔ラットが用いられている。これまでの研究により、胎仔期にストレスを受けた成体ラットにおいて、多動性、個体間相互作用の低下、逆転学習障害、探索反応の減少など、ヒトと共通する行動変化が観察されている。しかしながら、物質依存の詳しい解析はまだ行われていない。そこで申請者は、ラットの胎仔期ストレスモデルと物質依存に関する代表的研究法の一つである脳内自己刺激法を用いて、コカインに対する脳内報酬系の感受性に及ぼす胎仔期ストレスの効果について検討した。

妊娠SD系ラット27匹から生まれた雄ラット70匹（母体ストレス群38匹、コントロール群32匹）について解析した。母体ストレス（13匹）は妊娠13日目から19日目にかけて、150Wの

白熱灯照明下に置いた Bolman ケージで 1 日 3 回 (10:00、13:00、16:00 開始、各 45 分間) 拘束した。コントロール群の母体は無処置 (14 匹) とした。仔ラットは生後 21 日に離乳し、実験開始まで 3-4 匹で集団飼育した。①コカインの短期作用 (脳内報酬系の感受性促進効果) では、生後 10 週令のラットを用いた。刺激電極を内側前脳束に植え込み、術後 7-10 日目に自己刺激行動を習得させた。まず刺激周波数—反応率曲線を求め、薬物投与前のベースラインの報酬閾値を決定し、コカイン投与数分後に再び周波数—反応率曲線を求め、報酬閾値の変化について両群間で比較した。②コカインの長期作用 (脳内報酬系の感受性抑制効果) では、生後 8 週令のラットを用いた。①と同様の手続きで薬物投与前のベースラインの報酬閾値を 5 日間にわたって測定した。次いで、コカイン 20 mg/kg を毎日 1 回、5 日間さらに 40 mg/kg を毎日 1 回、5 日間、計 10 日間にわたって投与し、24 時間後に報酬閾値の変化を両群間で比較した。③自己刺激の消去反応に対するコカイン効果では、②のラットを用い、生理食塩水あるいはコカイン 10 mg/kg 投与下において、10 分間の自己刺激再学習後に 10 分間の消去を行うセッションを 3 回繰り返し、消去時の反応数の変化を両群間で比較した。④ストレス反応性については、生後 12 週令で 30 分間の拘束ストレスを両群ラットに与え、ストレス終了直後あるいは 2 時間後のコルチコステロン量をラジオイムノアッセイによって定量し両群間で比較した。

①投与直後に測定したコカインの短期作用は、用量依存性に自己刺激報酬閾値を低下させた ($p<0.001$) が、群間差はなかった。②投与 24 時間後に測定したコカインの長期作用は、報酬閾値を増加させる傾向を示したが群間差はなかった。③自己刺激の消去時反応数は、コカイン投与条件下において、母体ストレス群で有意に増加した ($p<0.01$)。④ストレス反応性については、ベースラインのコルチコステロン量には群間差はなく、拘束ストレスにより、両群ともストレス直後に有意に増加したが ($p<0.01$)、2 時間後ではコントロール群でベースラインに戻ったのに対し、母体ストレス群では高値が持続した ($p<0.05$)。

以上から、母体ストレスは、コカインに対する脳内報酬系の感受性に影響を与えないが (①②)、コカイン存在下では報酬性行動の消去に対する抵抗性を亢進することが示唆された (③)。また、母体ストレスによる視床下部—下垂体—副腎軸のネガティブフィードバックの減弱も示唆された (④)。

審査委員会では、ストレス母体の出生仔において報酬性行動に対する消去抵抗が依存物質存在下では増強することを初めて示し、妊娠中のストレスが出生子の将来の薬物依存症に関与する可能性を見出した点を高く評価した。

審査の過程において、申請者に対して次のような質問がなされた。

- 1) コカインの取り扱いについて
- 2) モリス水迷路試験における逆転学習とはどういう意味か
- 3) 脳内報酬系の感受性の促進と抑制が時間経過とともに両方おこるのはなぜか
- 4) 両群とも里親に育てさせるべきではなかったか
- 5) 報酬性行動の消去抵抗の亢進と視床下部—下垂体—副腎軸の減弱との関連
- 6) 母体ストレスは何を介して胎仔に影響するのか
- 7) 母体のコルチコステロンはどのようにして胎盤を通過するのか
- 8) 仔ラットの実験グループ毎の振り分けはどのようにしたか

- 9) 不適切な報酬性行動とはどのような意味か
- 10) 報酬性行動の消去実験中のコルチコステロン濃度変化を検討したか
- 11) コカインはどの神経系を介して行動を変化させているのか
- 12) 胎仔のコルチコステロン濃度は測定したか
- 13) ドーパミン系と視床下部－下垂体－副腎軸が独立して働いている可能性はあるか

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 福田 敦夫

副査 佐藤 康二 森 則夫