

# Perinatal asphyxia reduces dentate granule cells and exacerbates methamphetamine-induced hyperlocomotion in adulthood

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: 和久田, 智靖 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/810">http://hdl.handle.net/10271/810</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 548号	学位授与年月日	平成21年 3月18日
氏名	和久田 智 靖		
論文題目	Perinatal asphyxia reduces dentate granule cells and exacerbates methamphetamine-induced hyperlocomotion in adulthood (周産期仮死は成熟後の歯状回顆粒細胞数を減少させ、メタンフェタミン誘発性移所行動量を亢進させる)		

博士(医学) 和久田 智 靖

### 論文題目

Perinatal asphyxia reduces dentate granule cells and exacerbates methamphetamine-induced hyperlocomotion in adulthood

(周産期仮死は成熟後の歯状回顆粒細胞数を減少させ、メタンフェタミン誘発性移所行動量を亢進させる)

### 論文内容の要旨

[はじめに]

統合失調症の発症には遺伝要因と環境要因がそれぞれ約50%ずつ関与すると考えられている。環境要因の中で繰り返し確認されてきた危険因子として、胎児の低酸素症を伴う産科合併症がある。一方、統合失調症の脳内ではドパミン系の感受性亢進が起きていて、これがこの病の症状形成に関与していると考えられている。

さて、胎児の低酸素症の動物モデルに「周産期仮死モデル」がある。このモデルでは、成熟後にドパミン作動薬を投与すると活動性が異常亢進する。これを移所行動量の増加といい、ドパミン系の感受性亢進を示す指標として用いられている。では、「周産期仮死モデル」におけるドパミン系の感受性亢進はいかなる機序によるのであろうか? この疑問を解くことは統合失調症の病態発生に関する理解を深める上で重要である。

先に当教室の谷らは、成熟ラットの海馬歯状回の顆粒細胞を破壊するとドパミン作動薬であるメタンフェタミンにより誘発される移所行動量が増加することを示した。また、これまでの統合失調症の脳画像研究において海馬容積の減少が報告され、海馬と統合失調症の関連性が示唆されている。そこで、我々はラットの「周産期仮死モデル」を用い、成熟後のドパミン系の感受性亢進と海馬歯状回の顆粒細胞数減少との関連性を調べた。

[対象と方法]

妊娠 Sprague-Dawley 系雌性ラットを出産予定日にエーテル麻酔下に帝王切開した。胎仔を含んだ双角子宮の一方を、胎仔を含んだまま 37°C の生理食塩水内に 15 分間浸したのち胎仔を取り出し、これを仮死群とした。他方の子宮からは直ちに胎仔を取り出し、これを帝切群とした。また、同日に自然分娩された胎仔を経膣群とした。

メタンフェタミン誘発性移所行動量を赤外線センサーによる行動解析装置で計測した。メタンフェタミンを生理食塩水に溶解し、生後 6 週、12 週の経膣群、帝切群、仮死群の腹腔内に投与した。投与量は 0 (生理食塩水のみ)、0.5、2.0 mg/ml/kg とした。各週齢、各群、各用量における匹数を 8~10 とし、測定時間を 90 分間とした。

メタンフェタミン誘発性移所行動量の増加は線条体のドパミン放出量の増大を伴うことが分かっている。そこで、メタンフェタミン投与後の線条体ドパミン放出量を測定した。メタンフェタミン誘発性移所行動量は生後 12 週で最も大きかったので(結果を参照)、この週齢のドパミン放出量を脳内微小灌流法により測定した。各群の匹数を 6 とし、メタンフェタミン 2.0 mg/ml/kg を腹腔内投与し、灌流液中のドパミン量を高速液体クロマトグラフィーにより定量した。

海馬歯状回の顆粒細胞数、CA1 錐体細胞数、CA3 錐体細胞数を、生後 6 週と 12 週の経膣群、帝切群、仮死群について測定した。パラホルムアルデヒドで灌流固定し、脳を取り出し、次いで、冠状断切片

を作成してニッスル染色を行い、その後、カメラを接続した顕微鏡を用いて、画像を Stereo Investigator により上記の細胞数を計測した。各週齢の各群の匹数を 7~8 とした。

#### [結果]

6 週齢のメタンフェタミン誘発性移所行動量は、いずれの投与量においても、経膈群、帝切群、仮死群の 3 群間で有意差はなかった。12 週齢では、0.5 及び 2.0 mg/kg のメタンフェタミン誘発性移所行動量は、経膈群と帝切群に比し、仮死群で有意に増加していた(対経膈群:  $p < 0.01$ ; 対帝切群:  $p < 0.01$ )。12 週齢におけるメタンフェタミン投与後 90 分間の線条体ドパミン放出量は、経膈群と帝切群に比し、仮死群で有意に増加していた(対経膈群:  $p < 0.01$ ; 対帝切群:  $p < 0.01$ )。

6 週齢の歯状回の顆粒細胞数、CA1 錐体細胞数、CA3 錐体細胞数は、経膈群、帝切群、仮死群の 3 群間で有意差はなかった。12 週齢では、CA1 錐体細胞数と CA3 錐体細胞数は経膈群、帝切群、仮死群の 3 群間で有意差はなかったが、歯状回の顆粒細胞数が、経膈群と帝切群に比し、仮死群で有意に減少していた(対経膈群:  $p < 0.01$ ; 対帝切群:  $p < 0.05$ )。

#### [考察]

周産期仮死を経験したラットでは、12 週齢においてメタンフェタミン誘発性移所行動量が著明に増大していた。この結果は、アンフェタミンを用いた先行研究の結果と一致する。さらに、本研究では、周産期仮死を経験した 12 週齢のラットは、メタンフェタミン投与後に線条体におけるドパミン放出量の増大を示し、海馬歯状回の顆粒細胞数の減少を示すことを初めて明らかにした。これらの結果から、周産期仮死によって誘導される、成熟後のドパミン系の感受性亢進は、海馬歯状回の顆粒細胞数の減少と関係していることが示唆される。

### 論文審査の結果の要旨

統合失調症の発症には遺伝要因と環境要因がそれぞれ約 50 % ずつ関与すると考えられている。環境要因の中で繰り返し確認されてきた危険因子として、胎児の低酸素症を伴う産科合併症がある。一方、統合失調症の脳内ではドパミン系の感受性亢進が起きていて、これがこの疾病の症状形成に関与していると考えられている。しかし、どのようなメカニズムで胎児の低酸素症を伴う産科合併症が統合失調症を誘発するのかは未だ明らかではない。そこで、申請者はラットの「周産期仮死モデル」を用い、成熟後のドパミン系の感受性の変化と海馬の解剖学的変化を調べた。

妊娠 Sprague-Dawley 系雌性ラットを出産予定日にエーテル麻酔下に帝王切開した。胎仔を含んだ双角子宮の一方を、胎仔を含んだまま 37°C の生理食塩水内に 15 分間浸したのち胎仔を取り出し、これを仮死群とした。他方の子宮からは直ちに胎仔を取り出し、これを帝切群とした。また、同日に自然分娩された胎仔を経膈群とした。

メタンフェタミン誘発性移所行動量を赤外線センサーによる行動解析装置で計測した。メタンフェタミンを生理食塩水に溶解し、生後 6 週、12 週の経膈群、帝切群、仮死群の腹腔内に投与した。投与量は 0 (生理食塩水のみ)、0.5、2.0 mg/ml/kg とした。各週齢、各群、各用量における匹数を 8~10 とし、測定時間を 90 分間とした。

メタンフェタミン誘発性移所行動量の増加は線条体のドパミン放出量の増大を伴うことが分かっている。そこで、メタンフェタミン投与後の線条体ドパミン放出量を測定した。メタンフェタミン誘発性移所行動量

は生後 12 週で最も大きかったので、この週齢のドパミン放出量を脳内微小灌流法により測定した。各群の匹数を 6 とし、メタンフェタミン 2.0 mg/ml/kg を腹腔内投与し、灌流液中のドパミン量を高速液体クロマトグラフィーにより定量した。

海馬歯状回の顆粒細胞数、CA1 錐体細胞数、CA3 錐体細胞数を、生後 6 週と 12 週の経膾群、帝切群、仮死群について測定した。パラホルムアルデヒドで灌流固定し、脳を取り出し、次いで、冠状断切片を作成してニッスル染色を行い、その後、カメラを接続した顕微鏡を用いて、画像を Stereo Investigator により上記の細胞数を計測した。各週齢の各群の匹数を 7~8 とした。

6 週齢のメタンフェタミン誘発性移所行動量は、いずれの投与量においても、経膾群、帝切群、仮死群の 3 群間で有意差はなかった。12 週齢では、0.5 及び 2.0 mg/kg のメタンフェタミン誘発性移所行動量は、経膾群と帝切群に比し、仮死群で有意に増加していた(対経膾群:  $p < 0.01$ ; 対帝切群:  $p < 0.01$ )。12 週齢におけるメタンフェタミン投与後 90 分間の線条体ドパミン放出量は、経膾群と帝切群に比し、仮死群で有意に増加していた(対経膾群:  $p < 0.01$ ; 対帝切群:  $p < 0.01$ )。

6 週齢の歯状回の顆粒細胞数、CA1 錐体細胞数、CA3 錐体細胞数は、経膾群、帝切群、仮死群の 3 群間で有意差はなかった。12 週齢では、CA1 錐体細胞数と CA3 錐体細胞数は経膾群、帝切群、仮死群の 3 群間で有意差はなかったが、歯状回の顆粒細胞数が、経膾群と帝切群に比し、仮死群で有意に減少していた(対経膾群:  $p < 0.01$ ; 対帝切群:  $p < 0.05$ )。

周産期仮死を経験したラットでは、12 週齢においてメタンフェタミン誘発性移所行動量が著明に増大していた。この結果は、アンフェタミンを用いた先行研究の結果と一致する。さらに、本研究では、周産期仮死を経験した 12 週齢のラットは、メタンフェタミン投与後に線条体におけるドパミン放出量の増大を示し、海馬歯状回の顆粒細胞数の減少を示すことを初めて明らかにした。これらの結果から、周産期仮死によって誘導される成熟後のドパミン系の感受性亢進は、海馬歯状回の顆粒細胞数の減少と関係していることが示唆された。審査委員会では、周産期仮死が統合失調症の発症要因となるメカニズムを解析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) 産科合併症について
- 2) 低酸素・虚血状態の評価法について
- 3) 周産期仮死モデルについて
- 4) 社会的相互関係の測定法について
- 5) プレパルスインヒビションについて
- 6) 海馬の神経細胞の計測法について
- 7) ストレスとの関連について
- 8) 動物実験モデルの限界について
- 9) 行動量と海馬との関連について
- 10) 性差について

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 佐藤 康二

副査 福田 敦夫

伊東 宏晃