

論文の内容の要旨

論文題目 Stereotypic Behavior in Neuropsychiatric Diseases

和訳 精神神経疾患における常同行動に関する研究

指導教員 五十嵐 隆 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成 14 年 4 月 入学

医学博士課程

生殖・発達・加齢医学専攻

氏名 石黒 秋生

常同行動は人精神神経疾患に現れる主要症状の一つであり、いくつかの疾患に共通して認められる。常同行動という用語は、反復的、連続的且つ無目的な行動と定義され、突発的で感情的なストレスでしばしば誘発される。この場合の行動には運動行動のみでなく、関心や行為も含まれる。常同行動はしばしば QOL を悪化させる要因となり治療の対象となりうるが、そのメカニズムは、いまだ殆ど解明されていない。人を対象とした研究では、原疾患に対する投薬の効果を検討したものが中心であり、セロトニン作動薬や抗精神病薬などの常同行動に対する効果から線条体を含むドーパミン経路の関連が示唆されている。これをふまえ、モデル動物を用いてドーパミン経路をターゲットとした薬理的、神経生化学的検討が行われている。常同行動のモデルとして様々な動物モデルが提唱されているが、作成する手順として、飼育環境の制限やストレス負荷により常同行動を誘発するもの、主に線条体をターゲットとした薬物投与により常同行動をひきおこすものなどの報告がある。これらのモデル動物は共通してドーパミン経路の関連が示唆されるものの、それぞれ一長一短があり、これらを対象とした研究ではそのメカニズムを解明するまでに至っていない。

線条体におけるドーパミン活動性を評価する指標として、回転行動が挙げられる。パーキンソン病のモデルである Ungerstedt モデルは回転行動を示す動物モデルとして広く知られているが、本モデルは、片側ドーパミン経路を薬物によって障害して作成されたものであり、回転運動は、線条体機能の不均衡により生じると考えられている。

前庭機能異常モデルマウスは、共通して急速、反復的、持続的な回転運動を示す。これまでの報告の多くは、前庭機能異常による姿勢の異常などによって惹き起こされると

しているものの、ドーパミン経路がこの異常行動に関連しているとの報告もある。

Bronx Waltzer (以下 bv)マウスは、これまで遺伝性難聴のモデルマウスとして報告されてきたが、前庭の組織学的異常とともに、多くの前庭機能異常モデルと同様行動学的特徴として異常な反復的回転運動が指摘されている。本研究では、この bv マウスの反復的回転運動の特徴を、定量的、定性的に評価して常同行動のモデルとして矛盾しないかどうか検討するとともに、ウエスタンブロットィング法、ドーパミン作動性薬剤の脳内微小投与、微小透析法及び高速液体クロマトグラフィーなどの手法を用いて、異常行動のメカニズムに線条体、特にその機能アシンメトリーが関与している可能性を検討した。

行動評価実験では、まず、bv マウス 33 匹を対象にビデオ撮影による回転運動の解析を行った。左右別の回転数、回転運動開始から終了までの一エピソード内の回転数を計測した。回転の優位方向を決定し、優位側を同側回転、非優位側を反対側回転と定義し、回転の優位性を評価するため **circling preference ratio** として、総回転数に対する同側回転数の割合を算出した。次に bv マウス回転群 13 匹 非回転群 16 匹を対象に遮光下に各マウスをテストケージに入れ自由運動させ、DAS システムにより、対象から発せられる赤外線の様子を **locomotion count** として計測、回転群及び非回転群マウスの行動出現パターンを比較した。ビデオ撮影による行動解析では、回転運動は対象 33 匹中 24 匹 (72.7%) の bv マウスに認められた。回転が認められた対象の一分間あたりの平均回転数は、17.6 回転/分、1 エピソードあたりの回転数は 19.6 回転/分、平均 **circling preference ratio** は 0.78 であった。DAS システムによる検討では、回転群 bv マウスにおいて、30 分から 1 時間持続する高行動エピソードが 10 時間の実験期間を通して断続的に現れ、反復的、持続的であることが確認された。

第二に、線条体ドーパミン活動性の左右差を確認するため、回転群 (n=8) および非回転群 (n=5) bv マウスの線条体を回転優位側、非優位側あるいは左右別に摘出し、ウエスタンブロットィング法を用いてドーパミン D1 および D2 レセプターを定量的に計量、比較した。回転群 bv マウスにおいては、回転優位側線条体ドーパミン D1 および D2 レセプター数は、ともに回転非優位側に比較し優位に少なかった。一方、非回転群マウスにおいては有意な左右差を認めなかった。

第三に、回転優位側、非優位側線条体ドーパミン神経からのドーパミン放出能を評価するため、回転群 (n=6) および非回転群 (n=7) bv マウスの線条体にメタアンフェタミンを局所投与し、線条体内ドーパミン濃度を測定した。マウス線条体に局所投与用チューブ付プローブを挿入、定流量で微小灌流し、高速液体クロマトグラフィーシステムにてドーパミン濃度をリアルタイムに測定して基礎レベルを評価した。微小灌流を続けながら、メタアンフェタミンを局所投与用チューブから投与し、ドーパミン濃度を測定した。回転群マウスにおいてドーパミン基礎レベルは回転優位側 19.1 ± 11.1 、非優位側 19.2 ± 9.1 ng / サンプルで有意差を認めなかったが、メタアンフェタミン投与時のドーパミンレベルは各マウ

ドーパミン基礎値に対して、回轉優位側投与時 8.7 ± 5.7 倍、非優位側投与時 22.9 ± 12.7 倍 ($p=0.039$)と有意差が認められた。

第四に回轉行動のメカニズムに線条体が関与するかを検討するため、回轉優位方向、回轉非優位方向線条体にそれぞれドーパミンアゴニストを局所投与し回轉行動の変化を評価する実験を行った。対象は回轉群 bv マウス 10 匹 (内同側線条体投与 5 匹、反対側線条体投与 5 匹) および対照として ICR マウス、非回轉群 bv マウスを用いた。脳定位手術により片側の線条体にマイクロインジェクションチューブを挿入、投与薬物として D1 レセプター選択性が強いとされる A68930-hydrochloride を選択し、コントロール、低、高用量の薬物を一定のインターバルをおいて連続的に投与した。投与前後にビデオテープによる行動記録を行い、同側、反対側回轉数を計測し、各濃度の薬物投与前後の回轉数の変化を評価した。優位方向への回轉数は、回轉優位側投与により高用量を投与したときのみ有意に減少(投与前 49 ± 35 回轉/分;投与後 28 ± 23 回轉/分; $p=0.044$)し、回轉非優位側投与により有意に増加 (投与前 21 ± 28 回轉/分、投与後 35 ± 30 回轉/分; $p=0.017$)した。この回轉数の増減量を優位、非優位側投与間で比較すると優位側-21 回、非優位側投与で+13 回と投与側により有意に反応が異なっていた。

行動評価実験結果からbvマウスの回轉運動は、反復的で急速、一定の持続性があることが確認された。無目的で衝動的、ストレスにより誘発、増強される性質と合わせて考えれば、人間の精神神経疾患に見られる常同行動に矛盾せず、そのモデルになりうると考えられる。

回轉優位側で相対的にドーパミンレセプター数が有意に少なく、ドーパミン放出能が低い理由として、回轉優位側でのドーパミン作動性神経の減少が考えられるが、今後免疫組織学的検討を行い確認する必要がある。

片側線条体ドーパミンアゴニスト投与実験では、回轉群 bv マウスでは A68930 投与により回轉運動に有意な変化が認められたが、正常ラットでは片側線条体ドーパミン投与で行動異常は誘発されることが報告されている。本実験でも片側線条体ドーパミンアゴニスト投与にてコントロールマウスでは回轉運動を含む行動の変化は誘発されなかった。このことから、bv マウスの異常回轉運動には線条体異常が関与していることが示唆される。さらに、同側回轉は同側線条体にドーパミンアゴニストを投与すると減少し、反対側線条体に投与すると増加した。ドーパミン活性が相対的に高い線条体と反対側に回轉することはこれまで多くの報告で示唆されているが、これらの報告と我々の結果を照らし合わせると、bv マウスの回轉行動は左右線条体の機能的アシンメトリーを背景にしていると考えられた。

このような線条体機能異常は、ほとんど全ての前庭機能動物モデルにおいて同様な回轉運動が報告されていることをふまえると、前庭機能異常に由来する二次的な異常である可能性が高い。しかし、動物モデルにおいては多くの異なった常同運動が共通して線条体の関連が示唆されていることから、常同運動には線条体を含む共通のメカニズムが存在すると考えられ、このメカニズムの解明が常同運動の理解に重要であると思われた。

脳の異常なアシンメトリーあるいは正常なアシンメトリーの消失は、人の精神神経疾患では決して稀ではない。これまで形態学的、機能的、神経生化学的な脳の異常なアシンメトリーが報告されているが、このようなアシンメトリーがどのように疾患あるいは個々の臨床徴候に関わっているかは明らかではない。この関連を証明することは、人を対象とした研究では決して容易ではなく、動物モデルでの研究が不可欠であると考えられる。

本研究ではbv マウス異常な反復的回転行動を常同行動のモデルとすることが可能か妥当性を検討するとともに、その発現のメカニズムについて検討した。結果、異常回転行動は左右差を背景とする線条体機能異常が関与していることが強く示唆され、さらに常同運動に対するドーパミン系薬物による治療的な介入の可能性も示唆された。今後、免疫組織学的検討を行うとともに、回転行動がなぜ左右両方向におこりうるのかについて、左右線条体の協調機構に焦点を当てて検討を進めたい。