

# 精神分裂病の思春期発症に関する神経化学的研究

国立武蔵療養所神経センター疾病研究第三部

融 道 男 野 田 恭 平 高 嶋 瑞 夫

精神分裂病は思春期に発病しはじめ、40歳以降に発病することは稀になるという特徴をもつ疾患である。現在、分裂病はその治療薬の作用機序から脳内におけるドーパミン神経伝達の過剰によって病状が発現すると考えられている。

動物あるいはヒトの脳では加齢によってドーパミンや合成酵素の量が減少<sup>1) 2)</sup>、ドーパミン受容体も減少<sup>3)</sup>することが知られているので、40歳以降になって分裂病の発病がほとんどなくなるのは脳内におけるドーパミンニューロンの活性の低下が関係した現象であると考えられることができる。

今のところ、思春期の発症機転については全く解明の試みがなされていない。思春期に体内で増加する性ホルモンが何らかの機序でドーパミンニューロンを賦活する事実を見出すことがこの研究の目的である。

## 実験動物と方法

### 実験Ⅰ．PMS投与実験

実験動物は発情期前のWistar系雌性ラットを用いた。

1. 生後30日目のラット20匹に妊娠ウマ血清(PMS, serotropin, 帝国臓器)を0.6%食塩水に溶解して50単位を腹腔内に注射した(午前11時)。対照ラット21匹には0.6%食塩水を同量注射した。両群のうち各10匹は、4日後の午前11時に断頭した。PMS注射群の10匹および対照の11匹には注射後4日目および5日目の午前11時にスキナーボックスに入れ、15秒間隔に2mA、3秒持続の電気刺激を10分間ずつ与え、6日目に断頭した。断頭後、頭部および両側卵巣を摘出し、頭部は水冷したのち0°Cに保った冷凍箱内で脳を取り出し、-80°Cの冷凍庫内で凍結した。脳はクライオスタット(-10°C)で600μmの前額断切片を作製し、-15°Cの冷凍箱内で前頭葉内側部、外側部、線条体、中脳辺縁領域を取り出した。ドーパミン、その代謝物およびチロシン水

酸化酵素は既報<sup>4)</sup>にしたがい測定した。

2. 生後28日目のラットにPMS50単位を2日間にわたり腹腔内に注射し、注射後2、6、9日目にmethamphetamine 1mg/kgを腹腔内に注射し、ただちにスキナーボックスに入れ、15秒間隔に3mA、3秒持続の電気刺激を3分間与えたのち、自発運動量を測定した。自発運動量の測定には、体重の位置移動によってケージを支える偏角板が傾斜し、四隅に設置したマイクロスイッチが作動するように設計した測定器を用いた。

### 実験Ⅱ．ステロイドによる実験

#### 1. in vitroの実験

Long-Evans系成熟雄性ラットの線条体を用いて、0.03 nMの<sup>3</sup>H-spiperoneで標識される結合部位について、17β-estradiol、testosterone、corticosterone、および2-OH-17β-estradiolの10<sup>-10</sup>～10<sup>-8</sup>Mを用いてその抑制を調べた。ステロイドホルモンはethanolで3×10<sup>-3</sup>Mになるように溶解し、50mM Tris-塩酸バッファーで希釈して用いた。

またラットの線条体のチロシン水酸化酵素活性に対する17β-estradiol、2-OH-17β-estradiolの影響をin vitroで調べた。estrogenは100μlのmethanolに溶解し、N<sub>2</sub>ガスで蒸発乾固したのち酵素反応システムを加えた。

#### 2. in vivoの実験

Long-Evans系成熟雄性ラットを去勢し、2週間後100μg/日/個体の17β-estradiolあるいはtestosteroneをゴマ油に懸濁し、10日間にわたり皮下に注射し、最終投与の24時間後に断頭した。凍結脳の600μmスライスから前頭葉皮質を取り出し、50mM Tris-塩酸バッファー(pH 7.4)でポリトン破砕し、39,000×g 15分間冷却遠沈し、上清を捨てる操作を3回くり返し、沈渣を50mM Tris-塩酸バッファーで溶解し、試料とした。10μMの

Ketamserin をベースラインとして 0.5 nM の  $^3\text{H}$ -spiperone で標識される特異結合を  $S_2$  受容体として求めた。

線条体についても同様に膜成分を取り出し、 $D_2$  受容体を求めるために 20  $\mu\text{M}$  の (±) sulpiride をベースラインとして 0.01–0.6 nM の  $^3\text{H}$ -spiperone で展開し、Scatchard 解析した。

また卵巣を摘出した成熟雌性ラットに 17  $\beta$ -estradiol 100  $\mu\text{g}$ /日/個体を 3 日間皮下投与し、24 時間後に断頭して脳内各部位におけるチロシン水酸化酵素活性を測定した。

## 結果

### 実験 1.

#### 1. PMS 投与後の脳内生化学的変化

##### 1) 卵巣重量

表 1 に示したように、両側卵巣重量は約 3.5 倍に増大していた (表 1)。

表 1 妊娠ウマ血清 (PMS) 50 単位腹腔内注射 4 日後のラットの卵巣重量 (mean  $\pm$  SEM g)。

Saline	0.0483 $\pm$ 0.0046	(10)
PMS	0.1769 $\pm$ 0.0121	(10)

##### 2) ドーパミンおよび代謝物

表 2 に示したように線条体および中脳辺縁領域におけるドーパミン、3,4-dihydroxyphenylacetic

acid、ホモバニリン酸の濃度は PMS 投与群で対照に比し有意な変化はみられなかった。

### 3) チロシン水酸化酵素

線条体および中脳辺縁領域では PMS 処置群と対照群の間には活性の差はみられなかった (表 3)。PMS 処置群に電気刺激を与えると、線条体で活性が有意に増加した。外側前頭葉皮質でも PMS 群に電気刺激を与えた群の活性が PMS 群あるいは食塩水処置群 (SAL) より有意に高かった (図 1)。

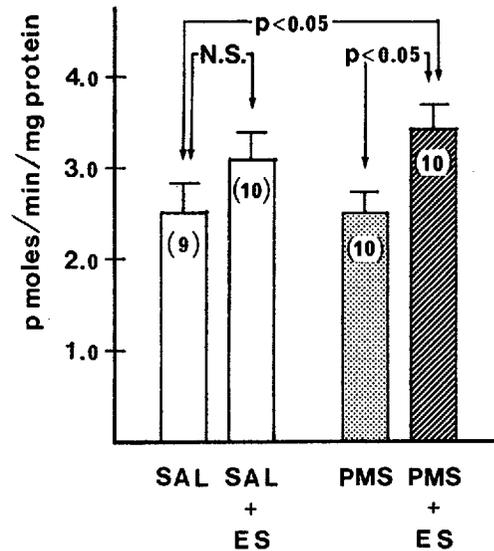
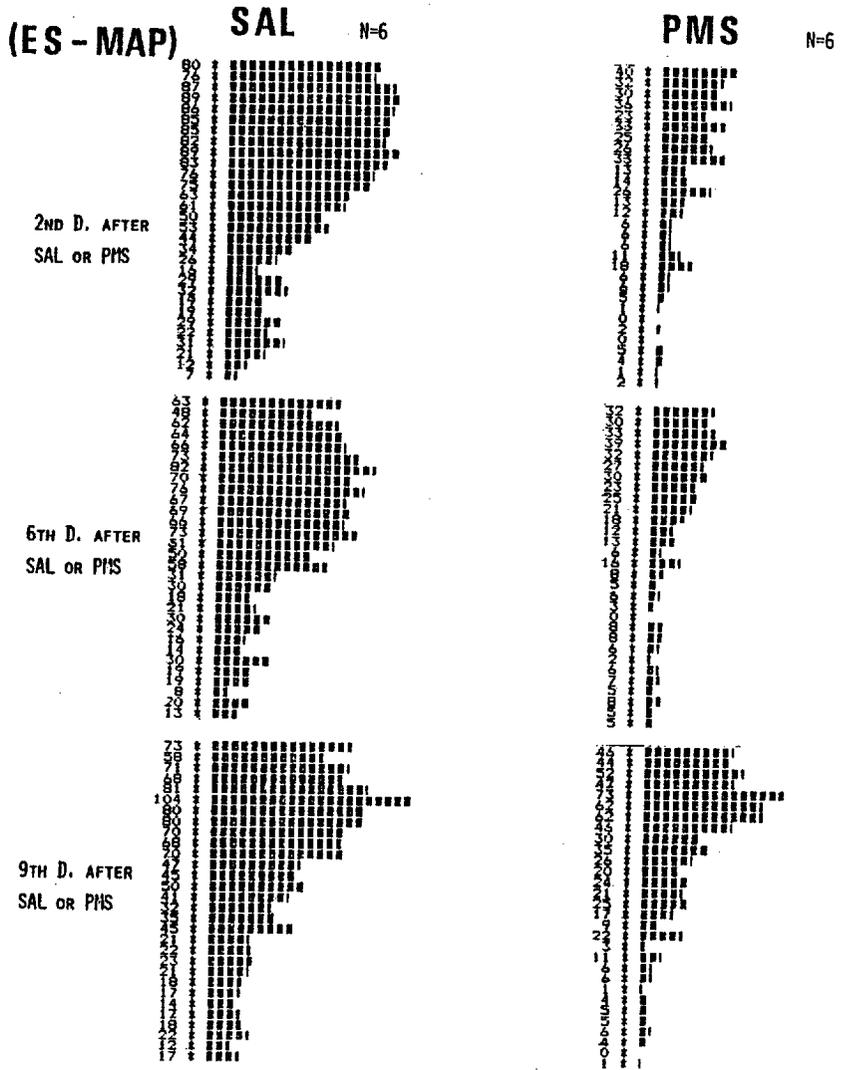


図 1 妊娠ウマ血清 (PMS) 注射および電気刺激 (ES) 後のラット外側前頭葉皮質におけるチロシン水酸化酵素の変化

表 2 妊娠ウマ血清 (PMS) 50 単位\* 腹腔内注射 4 日後のラット脳内ドーパミンと代謝物の変化 (mean  $\pm$  SEM ng/mg protein)

	n	Dopamine	3,4-Dihydroxy-phenylacetic acid	Homovanillic acid
Striatum	Saline	10 80.4 $\pm$ 4.73	19.3 $\pm$ 2.22	10.3 $\pm$ 0.85
	PMS	10 82.7 $\pm$ 2.39	14.9 $\pm$ 0.94	9.41 $\pm$ 0.72
Mesolimbic Area	Saline	10 33.4 $\pm$ 3.23	20.0 $\pm$ 1.34	6.98 $\pm$ 0.92
	PMS	10 36.1 $\pm$ 3.51	19.2 $\pm$ 1.20	6.46 $\pm$ 0.42

\* Pregnant mare's serum gonadotropin



図一 2 妊娠ウマ血清(PMS)50単位2日間腹腔内注射2、6、9日  
目におけるmethamphetamine(1 mg/kg, i. p.)、電気刺激  
後の自発行動量の変化  
5分ごとの行動量を6匹について平均して記録した。

表一3 妊娠ウマ血清(PMS)注射および電気刺激(ES)後のラット脳内チロシン水酸化酵素活性の変化 (n moles/mg protein/min)

	n	Striatum	Mesolimbic Area
Saline	10	1.02 ± 0.040	0.520 ± 0.025
Saline + ES	10	1.04 ± 0.036	0.563 ± 0.019
PMS	10	1.00 ± 0.024	0.538 ± 0.014
PMS + ES	10	1.10 ± 0.026 <sup>a</sup>	0.578 ± 0.018

a: p < 0.05 compared with PMS

## 2. PMS投与後の行動変化

PMS投与だけでは動物に行動上の変化はみられないが、PMSを2日間投与したのちに、methamphetamineを投与し、更に短時間の電気刺激を与えた時の自発行動量が減少することがわかった(図2)。図は6匹のラットの行動量の平均値であるが、PMS投与後2、6日目に行動量の減少が顕著に認められる。

### 実験II.

#### 1. in vitroにおけるestrogenの作用

1) 図3に示すように17β-estradiol(E<sub>2</sub>)によっては<sup>3</sup>H-spiperone結合は抑制されず、testosterone、

corticosteroneでも同様であった。しかし2-OH-17β-estradiol(2-OH-E<sub>2</sub>)では10<sup>-5</sup>M以上の濃度で結合の著明な抑制が認められた。

2) 17β-estradiol(E<sub>2</sub>)ではチロシン水酸化酵素活性は抑制されなかったが、2-OH-17β-estradiolの10<sup>-5</sup>M以上では活性が顕著に抑制された(図4)。

#### 2. in vivoにおけるestrogenの作用

1) 前頭葉S<sub>2</sub>受容体は性ホルモンの投与により変化はなかった(図5)。

2) 線条体D<sub>2</sub>受容体はestradiol投与群でB maxが有意に増加した(図6)。

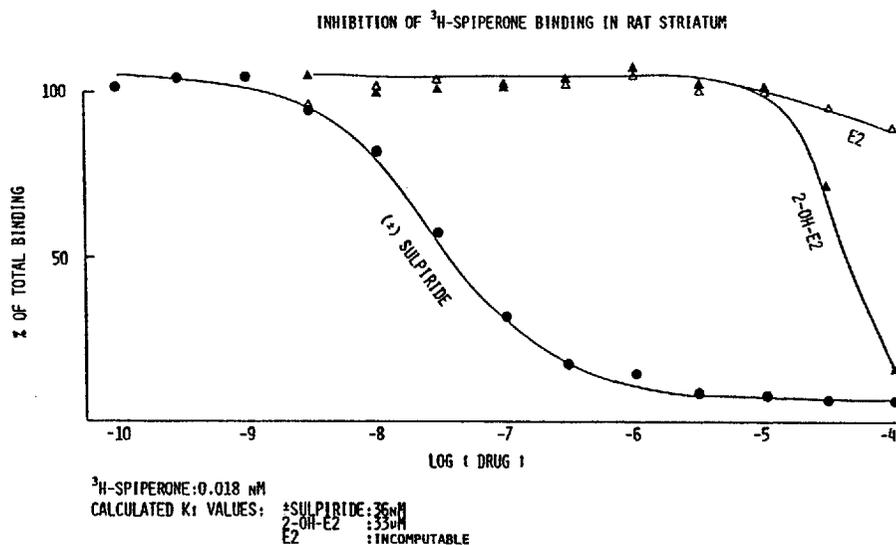
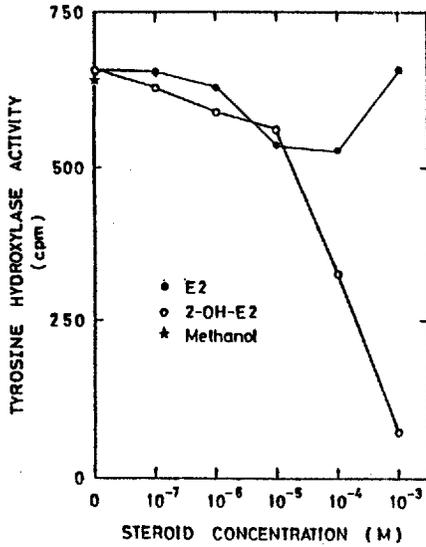
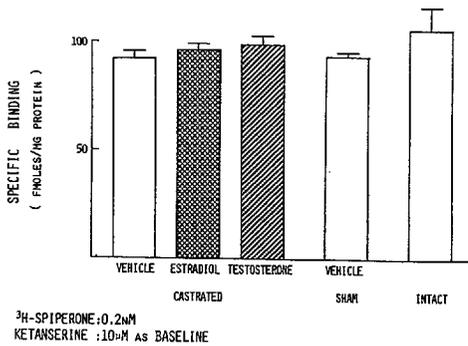


図-3 ラット線条体の<sup>3</sup>H-spiperone結合に対する17β-estradiol(E<sub>2</sub>)および2-OH-17β-estradiol(2-OH-E<sub>2</sub>)の影響



図—4 ラット線条体チロシン水酸化酵素に対する 17β-estradiol (E<sub>2</sub>)、2-OH-17β-estradiol (2-OH-E<sub>2</sub>) の作用



図—5 性ホルモンを投与した雄性去勢ラット前頭葉皮質における ketanserin 感受性 <sup>3</sup>H-spiperone 特異結合 (S<sub>2</sub>受容体) の変化  
性ホルモンは各100μg/日/個体を10日間わたり皮下注射し、11日目に脳を取り出した。

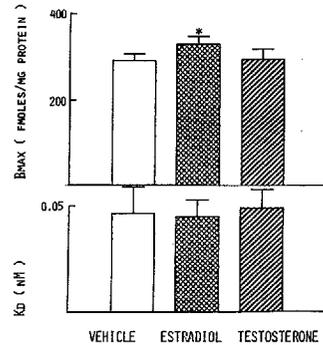
3) 17β-estradiol 投与群のチロシン水酸化酵素活性は、線条体、中脳辺縁領域、視床下部、扁桃体、黒質、腹側被蓋野、青斑核において平均値はすべて2倍前後の値がみられたが、有意差には達しなかった(図7)。

### 考 察

セロトニンニューロンが gonadotropin 分泌の調節や生殖行動に関係していることが古くから示唆されている<sup>6)</sup>。エストラスサイクルの間にセロトニン受容体が変動するという報告や estrogen 投与により背側縫線核、黒質でセロトニンが増加するという報告もあるが、矛盾するデータもみられる。

Biegon<sup>8)</sup>は卵巣を摘除したラットにさまざまな量の estradiol を与えて、セロトニンをベースラインとして <sup>3</sup>H-セロトニン特異結合を求める実験を行い、急性実験でこの受容体 (S<sub>1</sub>) 数が減少することを示した。今回、S<sub>2</sub>受容体に対する estrogen の影響を調べたが、この実験条件では有意な変化は得られなかった。

2-OH-17β-estradiol は、17β-estradiol がカテコール-O-メチル基転移酵素により2位の水酸化を受けて生ずるもので、下垂体や中枢神経系をはじめとする全身の組織に存在する。<sup>9) 10)</sup>



EACH VALUE IS THE MEAN WITH S.E.M. OF FOUR ASSAYS.  
\*p<0.001 WHEN COMPARED TO CONTROL VALUES BY TWO-TAILED MATCHED PAIR T-TEST.

図—6 性ホルモンを投与した雄性去勢ラット線条体における sulpiride 感受性 <sup>3</sup>H-spiperone 結合 (D<sub>2</sub>受容体) の変化、性ホルモン投与条件は図5と同じ。

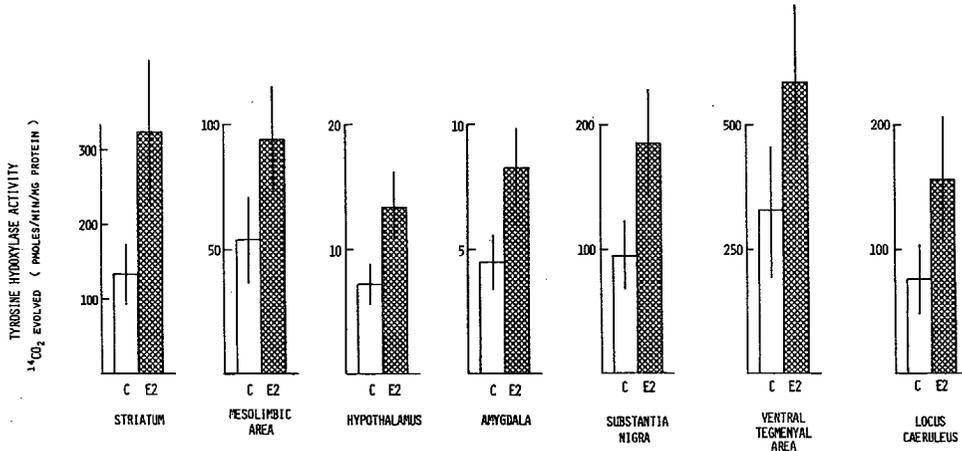


図-7 17β-estradiol (100 μg/日/個体×3日間、皮下) を投与した雌性去勢ラット脳内各部位のチロシン水酸化酵素活性の変化。投与終了24時間後に断頭。(mean ± S. E. M. of 4 rats)。

カテコール化合物でチロシン水酸化酵素が抑制されるのはブテリジン補酵素に対する競合阻害によるとされている<sup>11)</sup>。Lloydらは2-OH-estradiolが半精製したウシの尾状核中の酵素活性をd/1-ノルアドレナリンと同程度に競合的に抑制することを明らかにした。その後ラット線条体を用いて2-OH-estradiolがin vitroでこの酵素活性を抑制することはForemanらによって確認されている<sup>13)</sup>。

今回の実験でラット線条体のチロシン水酸化酵素活性が2-OH-estradiolでForemanらが示したのとはほぼ同じ程度に阻害されることがわかった。このような現象が脳内で生じていることを推定し、17β-estradiolを去勢した雌性ラットに与えたところ、測定したすべての部位で酵素活性はむしろ上昇傾向を示した。投与したestradiolの量はかなり大量であり、これが2-OH体ほどの程度変化し、脳内で2-OH体がどのように分布するかについて検討しなければならない。また今回の結果は3日間投与して24時間後の酵素活性を測定したもので、時間経過の要素も考慮する必要がある。いずれにせよ、estradiolの投与によりドーパミン合成酵素の活性が変動することが確認されれば、性ホルモンのカテコールアミン機能に対する影響について一つの重要な

証拠となりうると思われる。

一方、PMSによって強制的に思春期を発生させた雌性ラット脳内のチロシン水酸化酵素活性あるいはドーパミンやその代謝物などにはほとんど変化はみられなかった。カテコールアミンの作動剤であるmethamphetamineと電気刺激を併用してはじめて行動量が対照群より減少するという結果が得られた。

チロシン水酸化酵素活性の減少や行動量の減少は、一見ドーパミン過剰伝達と相反する現象のように思われるが、ニューロンの伝達機能の変動が起これば、それを修復する形で逆方向の変化が生ずることも想像されるので必ずしも逆の結果とは思われない。

Hruskaらは<sup>14)</sup> 雌性の成熟ラットに17β-estradiol 125 μgを皮下注射し、6日後にamphetamine 5mg/kgまたはapomorphine 4 mg/kgによる常同行動の出現を調べ、estrogenの活性を受けた群が明らかに常同行動が増加することを示した。線条体を用いて行った<sup>3</sup>H-spiperoneによりドーパミン受容体を測定したところ、親和性に変化なく、B maxの増加がみられたという。

一方、Gordonら<sup>15) 16)</sup> Hruskaらとある意味で逆の結果を発表している。彼らは卵巣を摘出したラットに少量のestrogen (8 μg/kg/日)を連続投与する

と、haloperidolの投与後に生ずるapomorphineによる常同行動の感受性亢進が抑制されることを見出している。彼らの結果はむしろestrogenがドーパミン受容体に対して抑制的に働くことを示している。

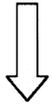
このような矛盾を生ずる原因として、与えるestrogenの量、期間、連続投与後休業する日数などが異なることが考えられる。ここで重要なことは、このような性ホルモンが脳内ドーパミン受容体に影響を与えうるという事実である。

ドーパミンを中心としたニューロンのネットワークのどこかに脆弱な素質をもつ個人が、思春期の性ホルモンの変動によって神経伝達機構の攪乱を生じ、それが脳内の特定部位のドーパミンニューロンの過剰活動を招来し、これが発症につながる機構を仮定してみたい。これを証明する実験は現在計画中である。

## 文 献

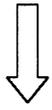
1. Joseph, J. A., Berger, R. E., Engel, B. T. and Roth, G. S. : Age-related changes in the nigrostriatum: a behavioral and biochemical analysis, *J. Gerontology*, 33: 643-649, 1983
2. Adolfsson, R., Gottfries, C. G., Roos, B. E. and Winblad, B. : Post-mortem distribution of dopamine and homovanillic acid in human brain, variations related to age, and a review of the literature. *J. Neural Transmission*, 45: 81-105, 1979
3. Govini, S., Memo, M., Saiani, L., Spano, P. F. and Trabucchi, M. : Impairment of brain neurotransmitter receptors in aged rats. *Mech. Ageing Develop.*, 12: 39, 1980
4. Nishikawa, T., Mataga, N., Takashima, M. and Toru, M. : Behavioral sensitization and relative hyperresponsiveness of striatal and limbic dopaminergic neurons after repeated methamphetamine treatment. *Eur. J. Pharmacol.*, 88: 195-203, 1983
5. Everitt, B. J., Fuxe, K., Hokfelt, T. and Jonsson, G. : Role of monoamines in the control by hormones of sexual receptivity in the female rat. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 89: 556, 1975
6. Biegon, A., Bercovitz, H. and Samuel, D. : Serotonin receptor concentration during the estrous cycle of the rat. *Brain Res.*, 187 : 221-225, 1980
7. DiPaolo, T., Daigle, M., Picard, V. and Barden, N. : Effect of acute and chronic  $17\beta$ -estradiol treatment on serotonin and 5-hydroxyindole acetic acid content of discrete brain nuclei of ovariectomized rat. *Exp. Brain Res.*, 51: 73-76, 1983
8. Biegon, A. and McEwen, B. S. : Modulation by estradiol of serotonin<sub>1</sub> receptors in brain. *J. Neurosci.*, 2: 199-205, 1982
9. Fishman, J. : The catechol estrogens. *Neuroendocrinology*, 22:363-374, 1976
10. Paul, S. M., Axelrod, J. and Diliberto, E. J. : Catechol estrogen forming enzyme of brain: demonstration of a cytochrome p-450 monooxygenase, *Endocrinology*, 101: 1604-1610, 1977
11. Udenfriend, S., Salzman-Nirenberg, P., and Nagatsu, T. : Inhibitors of purified beef : adrenal tyrosine glyoxylyase. *Biochem. Pharmacol.* 14:837, 1965
12. Lloyd, T., Weisz, J., and Breakfield, X. O. : The catechol estrogen, *J. Biol. Chem.* 253: 4841-4843, 1978
13. Foreman, M. M., and Porter, J. C. : Effects of catechol estrogens and catecholamines on hypothalamic and corpus striatal tyrosine hydroxylase activity. *J. Neurochem.* 34:1175-1183, 1980
14. Hruska, R. E., and Silbergeld, E. K. : Estrogen treatment enhances dopamine receptor sensitivity in the rat striatum. *Eur. J. Pharmacol.*, 61: 397-400, 1980
15. Gordon, J. H. and Diamond, B. I. : Antagonism of dopamine supersensitivity by estrogen: neurochemical studies in an animal model of tardive dyskinesia. *Biol. Psychiat.*, 16:365-371, 1981

16. Fields, J. Z. and Gordon, J. H. : Estrogen inhibits the dopaminergic supersensitivity induced by neuroleptics. *Life Sci.*, 30;229-234, 1982



## 検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



精神分裂病は思春期に発病しはじめ、40歳以降に発病することは稀になるという特徴をもつ疾患である。現在、分裂病はその治療薬の作用機序から脳内におけるドーパミン神経伝達の過剰によって病状が発現すると考えられている。

動物あるいはヒトの脳では加齢によってドーパミンや合成酵素の量が減少し、ドーパミン受容体も減少することが知られているので、40歳以降になって分裂病の発病がほとんどなくなるのは脳内におけるドーパミンニューロンの活性の低下が関係した現象であると考えることができる。

今のところ、思春期の発症機転については全く解明の試みがなされていない。思春期に体内で増加する性ホルモンが何らかの機序でドーパミンニューロンを賦活する事実を見出すことがこの研究の目的である。