

メタンフェタミン行動奇形による実験的研究

岡山大学医学部神経精神医学教室

佐藤光源 藤原豊 小川俊彦
原田俊樹 江原嵩 武南克子

緒言

早期幼児自閉症は、表1のDSM-III診断基準¹⁾に示したように生後きわめて早期に発症し対人関係を含む環境への反応性の障害が特徴的である。最近ではその基盤に睡眠覚醒リズム形成の遅れに代表される脳内変化⁵⁾が証明されている。しかしその生物学的な変化は十分には明らかにされていない。山崎らによると、脳器質性障害が想定される自閉症では、動物モデルを作成してその病態を解明し、そのためには行動奇形学⁶⁾の応用がひとつの手段になるとされている¹⁰⁾。慢性メタンフェタミン(MAP)投与を行なった動物モデルは妄想型分裂病の研究モデルとして広く注目されているが、行動上の障害をなす主要な変化として、環境との適切な関係の途絶がありそのために場にそぐわない行動として表出されることが知られている⁷⁾。覚醒アミンは主に脳カテコラミン作動系に作用し、その持続投与によりドパミン系に持続性の障害をもたらせることが示されており、それが容易に胎盤を通過して胎児の中樞神経系に作用すること、ラットでは妊娠17.8日後にドパミンを含む薬物受容体が形成されること²⁾、妊娠初期には外形上の奇形が、胎生13-17日の中期では大脳皮質、視床、視床下部、海馬、線条体などの発達障害が障害されて行

動奇形がおこることが知られている⁸⁾。胎生18日から生後7日目までは小脳などのマイクロニューロンの最後の有糸分裂を終わることも知られており⁹⁾、この時期における侵襲が行動奇形をおこす可能性も否定できない。

そこで今回は妊娠が確定した母ラットに、MAPを慢性投与し新生ラットの行動奇形の有無を検討し自閉症モデルとしての有用性を検討した。脳内の生化学的変化については引き続き研究する予定であるが、今回は脳部位別カテコラミン濃度の測定結果についても報告したい。

実験方法

SD系ラット18匹を用い、自然交配により40匹新生児ラットを得てこれらを実験対象とした。

妊娠が確実と判定されたラットにMAP 2mg/kgまたは生食の投与を始め出産までの3週間反復投与した。出生したラットはすべて生食投与を行なった母親ラットに飼育させた。これらをMAP群と対照群に2分した。

1. 行動観察

出生21および35日後に行動観察を行なった。各群から無作為に抽出した5匹のラットを一群とし、群

表-1 Infantile Autism (DSM-III)

1. Onset before 30 months of age.
2. Pervasive lack of responsiveness to other people.
3. Gross deficits in language development.
4. Peculiar speech patterns (echolalia, etc).
5. Bizarre responses to various aspects of the environment.
6. Absence of delusion, hallucination etc as in schizophrenia.

表一 2 メタンフェタミンによる異常行動の評価尺度

1 : hyperactivity
2 : repetitive exploratory behavior with hyperactivity
3 : discontinuous sniffing with periodic locomotion
4 : continuous compulsive sniffing without locomotion
5 : bursts of gnawing or licking without locomotion

観察時間を5分ごとに分け、各5分間中4分以上認め
たものを採点した。

別の全自発運動量と立ち上がり運動量を測定した。測定には夏目製作所製 Natsumex NH-70H Activity Monitor を用い、NH-70 Accumulating printer で記録した。明期と暗期における自発運動量を測定し、ついで刺激への反応性を検討する目的で100dBの音刺激実験を行なった。後者の場合、刺激前の9分間を3分ずつ3分画して運動量の測定を行ない、これを刺激前運動量とした。ついで3分ずつの3分画のはじめ30秒間音刺激を加え、計9分間の運動量を測定して刺激中の運動量とした。その後の9分間を刺激前と同様の方法で測定しそれを刺激後の運動量とした。

2. MAPテスト

生後35日以後のラットにMAP 2 mg/kg を腹腔内注射し表2の常同行動評価尺度を用いて注射後180分間の行動を評価した。対照群には同用量の生食を慢性投与した母親から生まれたラットを用いた。

3. 脳カテコラミン濃度の測定

MAP群と対照群の生後35日以後に両群から各一匹ずつを一对とし断頭した。断頭後すばやく脳をとりだし、氷上にて視交叉を通る平面で前額断した。断面より前方の部分で線条体をくり抜き、残りの部分から脳梁、辺縁系前脳部、嗅球などを取り除いて前頭葉皮質を分離した。湿重量測定後ただちにdopamine、norepinephrine測定のための処理を行なった。各部位の湿重量は、線条体が30 mg 前後、前頭葉皮質が100 mg 前後であった。

脳内 dopamine、norepinephrine の測定は Refshaugeらの方法に準じ、アルミナ吸着法で抽出し、高

速液体クロマトグラフィー・電気化学検出器にて行なった。

①抽出

脳組織に0.1 M EDTA 100 μ l、0.1 M NaHSO₄ 100 μ l、0.05 M HClO₄ 2.8 ml、内部標準として、DHBA 200 ngを加え POLYTRON[®] でホモジナイズした。ホモジネートを7500 g、0°C、15min 遠沈し、上清1 mlに酸洗浄アルミナ30 mg、1M トリス緩衝液 (pH 8.6) 2 ml を加え、15分間振盪した。液相をアスピレーターで吸引除去後、アルミナを蒸留水で3回洗浄し、0.1 N HCl 100 μ lにて脱着した。2000 g、0°C、5 min 遠沈後上清20 μ lをHPLC 供試液とした。

②高速液体クロマトグラフィー

装置は Yanaco L-2000、電気化学検出器は VMD-101 を用い、カラムは逆相系 ODS-A (4.6×250 mm) を用いた。設定加電圧700 mV、流速1.7 ml/min、4~8 nA フルスケールにて測定を行なった。

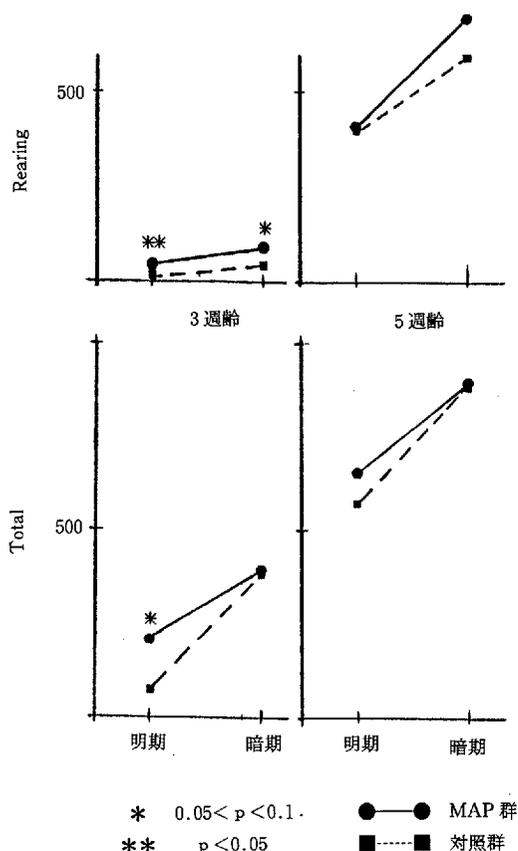
移動相は、0.1 M phosphate buffer (pH 3.2) とメタノールを8 : 2の割合で混ぜ、2.5 mM オクタンスルフォネート、20 μ M EDTA (2 Na) を加えた。

上記条件下で norepinephrine は約6 min、DHBA は約13 min、dopamine は約22 min で明瞭な peak として検出された。DHBA の peak の高さに対する各物質の peak の高さの比を求め、濃度を算出した。

実験成績

1. 自発運動量の変化

MAP、対照両群の3および5週齢における明暗両期の自発運動量を図1に示した(図1)。自発運動量の変化はMAP群で3週齢で見られ、5週齢では消失した。3週齢のMAP群では、対照群よりも明期における立ち上がり運動量が有意に増加し、全自発運動量も増加傾向を示した。立ち上がり運動量は暗期でも増加の傾向にあった。注目すべき変化は、対照群にみられる明期から暗期にかけての有意な運動量の増加がMAP群でみられないことである。対照群では明期に一群となり (grouping)、運動量が減少するが、MAP群ではgroupingがみられず、このために明暗サイクルが不明瞭になったものと思われる。この成績は、運動量の日内リズムの形成が、MAP群では対照群よりも遅延することを示すもの



図一 1 自発運動量の比較

である。しかし5週齢になると自発運動量に対照群と同じ明暗サイクルが形成される。

2. 音刺激による全自発運動量の変化

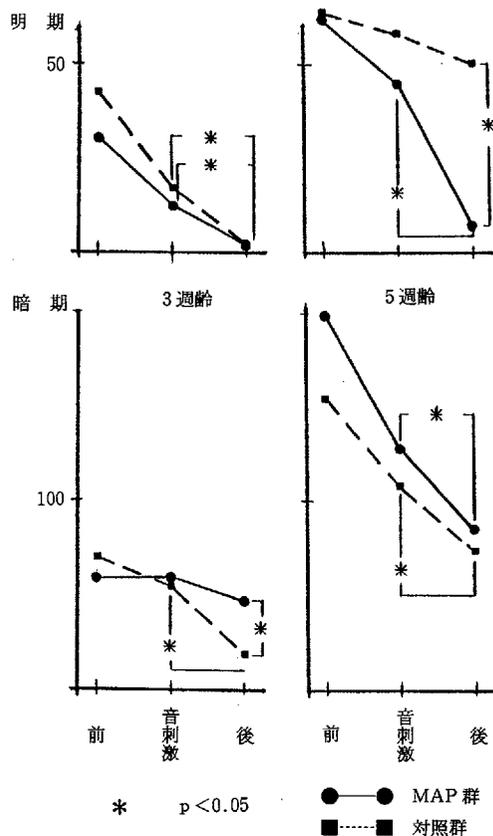
音刺激後に3週齢の対照群暗期の運動量は有意に減少するが、MAP群ではそうした現象がみられずほぼ一定した運動量が持続してみられた。また5週齢の明期では音刺激後、対照群では一定の運動量が持続してみられたが、MAP群では有意な減少を認めた(図2)。いずれも音刺激後のMAP群の行動に変化がおこることを示すものである。

3. MAPテスト

結果を図3に示した。MAP 2 mg/kgに対する常同行動の出現は両群の間に差がみられなかった。

4. 脳内カテコラミン濃度の変化

結果を表3に示した。MAP群、35日後の前頭部皮質で、対照群に比べ、ドパミン濃度の有意な減少



図一 2 音刺激による全運動量の変化

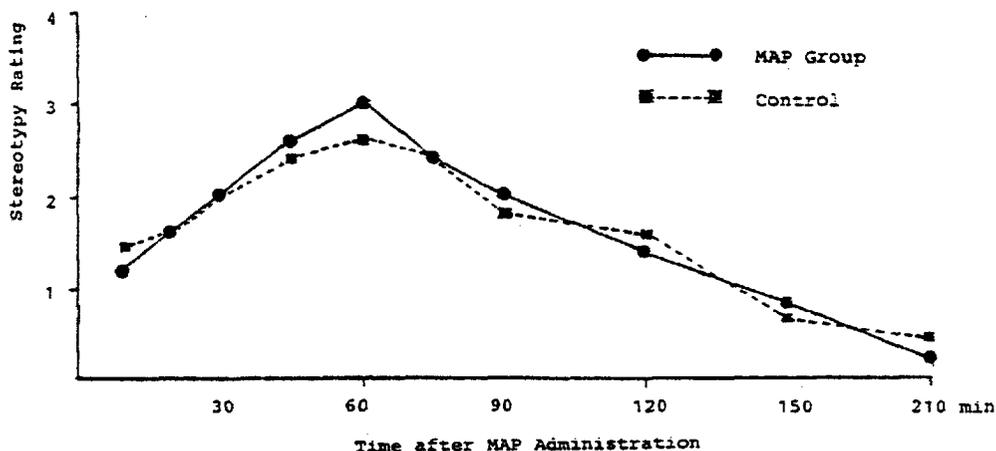


図-3 メタンフェタミン試験

を認めた。

表-3 脳カテコラミン濃度の変化

1)21日

	CONTROL 群	MAP 群
NE		
FC	0.13677 ± 0.03605 (n = 5)	0.11809 ± 0.00872 (n = 4)
Str	0.13259 ± 0.09773 (n = 3)	0.09905 ± 0.02048 (n = 3)
DA		
FC	0.15123 ± 0.09447 (n = 4)	0.10511 ± 0.02107 (n = 4)
Str	5.39489 ± 1.13131 (n = 3)	4.50660 ± 0.46519 (n = 3)

ng/mg tissue

2)35日

	CONTROL 群	MAP 群
NE		
FC	0.16423 ± 0.01284 (n = 4)	0.16864 ± 0.02055 (n = 5)
Str	0.10510 ± 0.06289 (n = 5)	0.07492 ± 0.01276 (n = 3)
DA		
FC	0.13082 ± 0.02303 (n = 4)	0.07900 ± 0.03101* (n = 5)
Str	9.34727 ± 2.82577 (n = 5)	7.42096 ± 1.4442 (n = 5)

*: 5% significant ng /mg tissue

考 察

覚醒アミンによる行動奇形として多動や新しい環境への慣れの障害がおこるとの報告がある。Clark³⁾らや Hitzemann⁴⁾らは生後15日目に自発運動量が増加

し、21日後には逆に減少することを報告した。今回の成績では21日後の明期で運動量の増加がみられ、35日後には対照群の水準に回復した。これらはいずれも生後早期に自発運動量が増加することを示すものである。また音刺激後の運動量に両群間の差を認めたがその意味は今回の実験では明確でない。Hitzemannらはアンフェタミンの行動奇形として新しい環境への慣れの障害がおこることを記載し⁴⁾、それが生後3か月間持続すること。その時の間脳脳幹におけるノルエピネフリンが18%減少し脳幹のドパミンが21%減少していたと報告している。今回の音刺激後の運動量の変化が外部刺激への反応性の変化、特に慣れの障害か否かはさらに検討する必要がある。今回の実験で明らかになったのは、MAP群にみられる自発運動量の明暗サイクル形成の遅延である。これは早期幼児自閉症で瀬川らが明らかにした睡眠覚醒リズム形成の遅延⁵⁾と共通したtrait dependentな障害とみなすことができる。そしてMAP行動奇形モデルが、この意味で、自閉症の研究モデルとなることを示唆するものといえよう。

上述したように覚醒アミンによる行動奇形モデルでは脳幹間脳部のカテコラミンの減少が報告されているが、今回の予備実験では前頭部皮質のドパミンの減少がみられた。さらに他の部位の検索とともにセロトニンおよびモノアミン代謝産物、モノアミン受容体の定量が行なわれなければならない。今回はMAP行動奇形に伴ってドパミン系の異常がおこりうるという指摘だけにとどめ詳細な病的意義につ

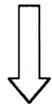
いては次年度以降の研究にまちたいと思う。

まとめ

1. MA Pにより行動奇形と思われる行動異常がみられた。運動量の明暗サイクルに伴う変化が形成されにくく、何らかの日内リズムの障害があることが推測された。また外部刺激への grouping response が障害されたが、これは自閉症にもみられる『外部環境との適切な関係の障害』と類似している。
2. 上述した行動奇形モデルでは前頭部皮質のドパミンが減少しており、神経伝達の障害が示唆された。

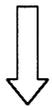
文献

1. American Psychiatric Association: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. Third Edition. Washington, 1980
2. Bruinink A., Lichtensteiger W. and Schlumpf M.: Pre- and postnatal ontogeny and characterization of dopaminergic D₂, serotonergic S₂, and spirodecane binding sites in rat forebrain. *J. Neurochem.* 40: 1227-1236, 1983
3. Clark C. V. H., Gorman D. and Bernadakis A.: Effects of prenatal administration of psychotropic drugs on behavior of developing rats. *Devel. Psychobiol.* 3: 225-235, 1970
4. Hitzemann B. A., Hitzemann R. J., Brase D. A. and Loh H. H.: Influence of pre-natal d-amphetamine administration on development and behavior of rats. *Life Sci.* 18: 605-612, 1976
5. 星野仁彦: 自閉症の生化学的研究の現況について、*精神医学*、22: 902-925, 1980
6. Rodier P. M.: Critical periods for behavioral anomalies in mice. *Environ. Health Perspect.* 18: 79-83, 1976
7. 佐藤光源、秋山一文、中島豊爾、大月三郎、原田俊樹、船越美保、長尾卓夫: 慢性覚醒剤中毒の幻覚妄想状態にみられる逆耐性現象と抗精神病薬の再燃予防効果、*精神医学* 24: 1333-1340, 1982
8. 佐藤光源、柏原健一: 慢性覚醒剤中毒における幻覚妄想状態の生物学的機序: 展望、*精神医学*、24: 802-818, 1982
9. 瀬川昌也: 自閉症への小児神経学的アプローチ—睡眠障害の病態生理からの考察— 発達障害研究、4: 184-197, 1982
10. 山崎晃資、片岡憲章、林雅次: 児童精神医学の動向—とくに生物学的側面から。精神医学、24: 466-479, 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



緒言

早期幼児自閉症は、表1のDSM- 診断基準に示したように生後きわめて早期に発症し対人関係を含む環境への反応性の障害が特徴的である。最近ではその基盤に睡眠覚醒リズム形成の遅れに代表される脳内変化が証明されている。しかしその生物学的な変化は十分には明らかにされていない。山崎らによると、脳器質性障害が想定される自閉症では、動物モデルを作成してその病態を解明し、そのためには行動奇形学の応用がひとつの手段になるとされている。慢性メタンフェタミン(MAP)投与を行なった動物モデルは妄想型分裂病の研究モデルとして広く注目されているが、行動上の障害をなす主要な変化として、環境との適切な関係の途絶がありそのために場にそぐわない行動として表出されることが知られている。覚醒アミンは主に脳カテコラミン作動系に作用し、その持続投与によりドパミン系に持続性の障害をもたらせることが示されており、それが容易に胎盤を通過して胎児の中枢神経系に作用すること、ラットでは妊娠17.8日後にドパミンを含む薬物受容体が形成されること、妊娠初期には外形上の奇形が、胎生13-17日の中期では大脳皮質、視床、視床下部、海馬、線条体などの発達が障害されて行動奇形がおこることが知られている。胎生18日から生後7日までには小脳などのマイクロニューロンの最後の有糸分裂を終わることも知られており、この時期における侵襲が行動奇形をおこす可能性も否定できない。

そこで今回は妊娠が確定した母ラットに、MAPを慢性投与し新生ラットの行動奇形の有無を検討し自閉症モデルとしての有用性を検討した。脳内の生化学的変化については引き続き研究する予定であるが、今回は脳部位別カテコラミン濃度の測定結果についても報告したい。