

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年3月31日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21590097

研究課題名（和文） 痙攣発作に基づく精神障害発症動物におけるニコチン受容体の関与

研究課題名（英文） The participation of nicotinic acetylcholine receptor on long lasting psychogenesis induced by repeated electroconvulsive shock-induced seizure

研究代表者

荒木 博陽 (ARAKI HIROAKI)

愛媛大学・医学部附属病院・教授

研究者番号：50294450

研究成果の概要（和文）：痙攣発作に伴う長時間持続する精神障害の発症メカニズムを神経化学的、免疫組織学的ならびに行動薬理的見地から明らかにする事を目的とした。まず、電気痙攣を継続して負荷するモデル動物においては、自発的交替行動率の低下の抑制には運動野 2, 帯状領域 1, 前辺縁領域および海馬 CA3 領域の神経活動が関与している可能性が考えられた。また、てんかんに伴う短期記憶障害に対して $\alpha 7$ 受容体ではなく、 $\alpha 4\beta 2$ ニコチン性アセチルコリン受容体を介したアセチルコリン神経系の関与が示唆され、 $\alpha 4\beta 2$ ニコチン性アセチルコリン受容体作動薬が新たな短期記憶障害治療薬に結びつく可能性を示唆した。さらにペンチレンテトラゾールキンドリング（化学痙攣）モデルマウスでは長期記憶が障害されている可能性があることを明らかにし、電撃痙攣モデル動物と薬物痙攣モデル動物では記憶障害に違いがあるものの、てんかん患者における学習障害を反映する動物モデルとして有用である事が示唆されたもの、てんかん患者における学習障害を反映する動物モデルとしていずれも有用である事が示唆された。

研究成果の概要（英文）：In this study, we investigated the mechanisms of long lasting psychogenesis induced by repeated electroconvulsive shock (ECS)-induced seizure in rats. The repeated ECS-induced impairment of spontaneous alternation may be related the neuronal activity of the prefrontal cortex (motor2), pre-limbic, infralimbic and CA3 of the hippocampus. ECS-induced impairment of short time memory is related to the $\alpha 4\beta 2$, not but $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor. Therefore, it is conceivable that $\alpha 4\beta 2$ nicotinic acetylcholine receptor agonist is valuable for the memory deficit of epilepsy patients. Furthermore, it is appeared that long term memory deficit is induced by pentylenetetrazol-induced kindled mice. Although there are differences between the type of memory deficits in electric and chemical seizure model, it is thought that both are important for memory deficits of epilepsy patients.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・生物系薬学

キーワード：電気刺激誘発痙攣, 自発的交替行動, $\alpha 4\beta 2$ ニコチン性アセチルコリン受容体, ペンチレンテトラゾール痙攣

1. 研究開始当初の背景

てんかん患者における記憶、注意、行動、あるいは意識などの認知機能障害や注意欠如多動性障害の発症率が高いが、電気痙攣を継続して負荷することで安定して長時間持続する運動亢進ならびに学習障害が惹起されることを我々はすでに発表してきた。

2. 研究の目的

電気痙攣を継続して負荷するモデル動物を用いて痙攣発作に伴う長時間持続する精神障害の発症メカニズムを神経化学的、免疫組織学的ならびに行動薬理学的見地から明らかにする。また、痙攣モデルとして新たに化学痙攣（薬物誘発）によるキンドリングモデルを用いて詳細な検討を加える。

3. 研究の方法

電撃けいれん（ECS）を7日間反復負荷した動物（ラット）および抗てんかん薬の前投与によって7日間けいれんを抑制したラットを用いて、（1）最終負荷の24時間後に海馬および前頭皮質の脳由来神経栄養因子（BDNF）を測定する。薬物の効果としては抗てんかん薬であるバルプロ酸400mg/kgを腹腔内投与して影響を検討する。また、（2）c-Fos蛋白質の抗体を用いた免疫組織学的手法により、てんかんに併発する精神障害に関連する脳部位を明らかにする。加えて、（3）HE染色により細胞核の有無およびGFAP染色によって脳障害部位を明らかにする免疫組織学的検討を行う。

行動薬理学的検討（薬物誘発キンドリングモデルでの検討）として、（4）反復ECS負荷によって誘発される自発的交替行動率の低下および自発運動量増加と精神障害治療薬、特にニコチン受容体の関連について検討する。また（5）けいれん誘発薬物のペンチレンテトラゾール（40 mg/kg, i. p.）を動物（マウス）に3週間、隔日投与し、キンドリングモデルを作成する。完成したキンドリングモデルマウスを用い完成したキンドリングモデルマウスを用いてY-maze試験（自発的交替行動率）およびOpen-field試験（自発運動量）等の様々な精神障害について行動薬理学的検討を行い、精神機能の変化に伴うモデルとなりうるかを検討した。

4. 研究成果

（1）ECS 負荷ラットのBDNF量に関しては前頭前野あるいは海馬のいずれにおいてもBDNF量が有意に増加した。しかし、抗てんかん薬であるバルプロ酸投与で全く影響は見られなかった。

（2）ECS 負荷ラットにおいて前頭前野および海馬のc-Fos陽性細胞の発現には影響が見られなかった。しかし、ECS 負荷ラットへのバルプロ酸の前投与により痙攣を抑制したラットでは前頭前野運動野2、帯状領域1および前辺縁領域でc-Fos陽性細胞数の増加が認められた。一方、海馬歯状回においては反復ECS負荷でc-Fos陽性細胞数が有意に減少したが、バルプロ酸投与ではこの減少に対して影響は見られなかった。海馬CA3のc-Fosは増加が認められた。

（3）ECS 負荷による脳組織学変化としては前頭前野あるいは海馬において細胞の脱落や変性は見られなかった。

これらの点を考慮すると、反復ECS負荷に伴う自発的交替行動率の低下の抑制には運動野2、帯状領域1、前辺縁領域および海馬CA3領域の神経活動が関与している可能性が考えられた。

（4）ECS 負荷ラットにおける自発的交替行動率に帯するABT-418($\alpha 4\beta 2$ ニコチン性アセチルコリン受容体刺激薬)およびアナバシン($\alpha 7$ ニコチン性アセチルコリン受容体刺激薬)の影響を検討したところ、ABT-418 0.5mg/kg腹腔内投与で反復ECS負荷により低下した自発的交替行動は有意に増加した。一方、アナバシン 3mg/kgの腹腔内投与では何ら影響が見られなかった(図1)。このことはてんかんに伴う短期記憶障害に対して $\alpha 7$ 受容体ではなく、 $\alpha 4\beta 2$ ニコチン性アセチルコリン受容体を介したアセチルコリン神経系の関与が示唆され、 $\alpha 4\beta 2$ ニコチン性アセチルコリン受容体作動薬が新たな短期記憶障害治療薬に結びつく可能性を示唆した。

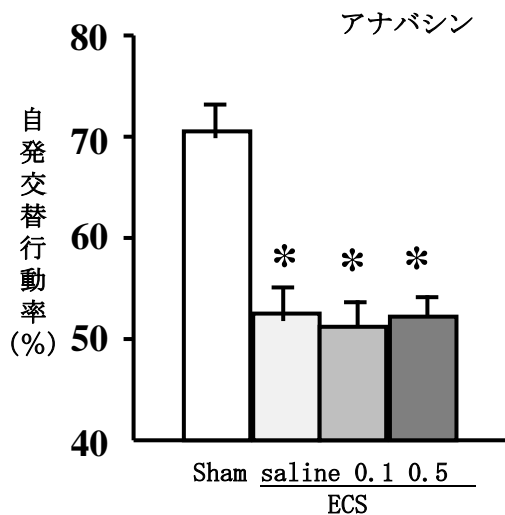
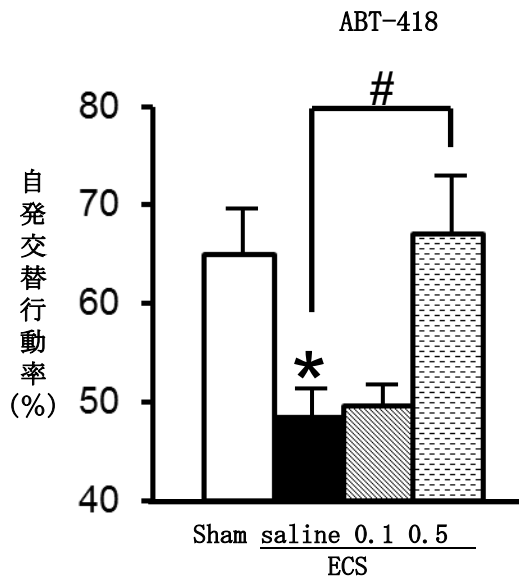


図1. ECS 負荷ラットにおける自発交替行動率に対する ABT418 およびアナバシンの影響

* : p<0.05 vs sham ラット
 * : p<0.05 vs ECS 負荷ラット

(5) 別のてんかんモデルであるペンチレンテトラゾール (PTZ) キンドリングモデルマウスを用い、Y-maze 試験で短期記憶障害について検討した。しかし、反復的 ECS モデルと異なり、spontaneous alternation (交替行動) には変化が見られなかった。このことは PTZ キンドリングマウスでは短期記憶障害は惹起されていないと考えられる。一方、長期記憶の評価系である物体配置認識試験を実施したところ、新規物体配置場所での滞在時間が延長しなかった事から、PTZ キンドリングモデルマウスでは長期記憶が障害されて

いる可能性があることが明らかとなった (図2)。

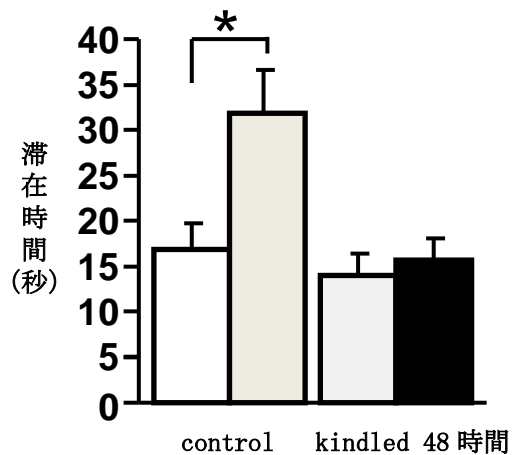


図2. ペンチレンテトラゾール反復投与によって作成した kindled mice における新規物体配置場所の滞在時間

* : p<0.05 vs pre 試行

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件) (すべて査読あり)

1) 武智研志, 末丸克矢, 川崎博己, 荒木博陽

- Review - ペンチレンテトラゾール誘発

キンドリングモデルにおける 記憶障害の評価 OYAKUGAKU ZASSHI 132, 179-182

(2012)

2) Noriaki Hidaka, Katsuya Suemaru, Kenshi Takechi, Bingjin Li, Hiroaki Araki

Inhibitory effects of valproate on impairment of Y-maze alternation behavior

induced by repeated electroconvulsive seizures and c-Fos protein levels in rat brains. Acta Medica Okayama 65, 269-277

(2011)

3) Kenshi Takechi, Katsuyam Suemaru,

Hiromu Kawasaki, Hiroaki Araki

Regulatory role of the dopamine and norepinephrine transporters in pentylentetrazol-kindled mice:

Association with effect of antidepressants. European Journal of Pharmacology 673, 33-39 (2011)

4) Noriaki Hidaka, Katsuya Suemaru, Hiroaki Araki

Serotonin-dopamine antagonism ameliorates impairments of spontaneous alternation and locomotor hyperactivity induced by repeated electroconvulsive seizures in rats. Epilepsy Research 90, 221-227 (2010)

〔学会発表〕(計 4 件)

1) 反復電撃いれんにより誘発されるラットの自発的交替行動障害に対するニコチン性アセチルコリン受容体作動薬の影響.

飛鷹範明, 末丸克矢, 荒木博陽 第 21 回日本臨床精神神経薬理学会・第 41 回日本神経精神薬理学会合同年会 2011 年 10 月 27 日東京

2) ペンチレンテトラゾール誘発キンドリングマウスにおけるうつ様行動に対するドパミントランスポーターの関与. 武智研志, 末丸克矢, 川崎博己, 荒木博陽 第 20 回日本臨床精神神経薬理学会・第 40 回日本神経精神薬理学会 2010 年 9 月 仙台

3) シンポジウム: てんかん研究の展望~新しい抗てんかん薬の開発に向けて~ ペンチレンテトラゾール誘発キンドリングマウスの情動行動評価. 武智研志, 末丸克矢, 荒木博陽 日本薬学会第 130 年会 2010 年 3 月 28 日 岡山

4) ペンチレンテトラゾール誘発キンドリングマウスの情動機能変化 武智研志, 末丸克矢, 亀井千晃, 川崎博己, 荒木博陽 第 83 回日本薬理学会年会 2010 年 3 月 18 日 大阪

6. 研究組織

(1) 研究代表者

荒木 博陽 (ARAKI HIROAKI)
愛媛大学・医学部附属病院・教授
研究者番号: 50294450

(2) 研究分担者

末丸 克矢 (Suemaru Katsuya)
愛媛大学・医学部附属病院・准教授
研究者番号: 50363239