

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 10 日現在

機関番号：34519

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2011 ～ 2012

課題番号：23790733

研究課題名（和文）慢性覚せい剤投与の線状体・側坐核に及ぼす影響と精神病形成のメカニズム

研究課題名（英文）Effects of chronic methamphetamine administration on change of dopamine transporter protein expression in striatum and nucleus accumbens, and the mechanisms of methamphetamine induced psychosis.

研究代表者

内海 美紀（UTSUMI MINORI）

兵庫医科大学・医学部・講師

研究者番号：50351797

研究成果の概要（和文）： 覚せい剤（メタンフェタミン、以下 MAP）を慢性的に頻回投与することによって、ラット線状体、側坐核内ドパミン（DA）受容体およびドパミントランスポーター（DAT）の発現密度の変化を観察する。m-RNA 定量にはリアルタイム PCR および RT-PCR 法を、タンパク質の定量にはウェスタンブロット法を用いた。その結果、MAP 頻回投与群の DAT-mRNA 発現量および DAT-タンパク質発現量が有意に低下していた。DAT 密度の減少は、MAP によって増加した細胞間隙内の DA の再取り込み作用を阻害し、慢性的に興奮作用を増強させることが予想され、結果的に MAP による依存形成に繋がること示唆された。

研究成果の概要（英文）： Observing the changes in the density of DA receptor and dopamine transporter expression in rat striatum and nucleus accumbens by chronic methamphetamine (MAP) administration. The real-time PCR and RT-PCR methods, and western-blotting method were used for measurement of m-RNA and protein, respectively. As a result, the DAT-mRNA expression level and the DAT-protein expression level of a chronic MAP administration group were decreased significantly. Decrease in DAT density inhibited the reuptake of DA, which was increased by MAP in the extracellular space. Further, long-term stimulatory effect by DAT inhibition will lead to dependent formation by MAP.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学・法医学

キーワード：メタンフェタミン

1. 研究開始当初の背景

近年、大きな社会問題となっている薬物乱用のうち、覚せい剤については「第3次覚せい剤乱用期」といわれ、その深刻な情勢は依然として継続している。我々は、覚せい剤(メタンフェタミン、以下MAP)によって異常精神症状を発現する率はアルコール嗜癖者に多いことから、両薬物間で何らかの相互作用があることを強く示唆してきた。

MAPによって引き起こされる中枢作用は特に中脳辺縁系(腹側被蓋野-側坐核)および黒質-線条体系ドパミン(DA)神経系の伝達増強が重要であるといわれ、MAP乱用者にみられる「覚せい剤精神病」と呼ばれる精神症状発現に関してもこのDA神経系が大きく関与していることが注目されている。しかしながらどのような機序でDA神経系が異常興奮状態になり、精神病を呈するに至るかについては未だ十分には解明されていない。乱用薬物の代表であるMAPにおける依存形成の機序について調査することは、アルコールをはじめ、様々な乱用薬物による依存症のメカニズムの解明と、中毒患者の治療に役立てるものと考えている。

2. 研究の目的

これまで我々はアルコール嗜好性の異なる2系統のラットを用いて、MAPをメインに乱用薬物に対する感受性の違いを検討してきた。それは乱用薬物による依存獲得から精神・身体異常の発現に至る過程を解明することで、先天的な要因が関係しているのか、あるいは反復摂取によって後天的に獲得する要因によるものなのかがある程度明らかになるものと期待しているからである。これまでの我々の研究により、以下の事柄が明らかとなってきた。

(1) MAPによって誘導される常同行動の活性についてアルコール嗜好性の違いで薬理的な相違が見られている

(2) 急性MAP投与後の脳内線条体および側坐核における細胞外液中DAおよびセロトニン(5-HT)濃度が異なっている

(3) 急性アルコール投与時と慢性アルコール投与時では、MAP誘導性の線条体内DAおよび5-HTの動態がそれぞれ大きく異なっている

(4) アルコール嗜好性といわれる遺伝的相違は、線条体におけるDA(特にD1)神経系における相違である可能性が高い(5-HT神経系の関与は低い)

という結果を得た(平成18-19年度 科学研究費補助金(若手研究(B)))。さらに、

(5) 線条体のD1受容体、DAの再取り込み受容体であるドパミントランスポーター(DAT) およびnegative-feedback機構である自己受容体(シナプス前D2受容体)に焦点を絞り、遺伝子レベルでの相違を検討したところ、アルコール感受性の高いラットは、MAP投与時に線条体DATのm-RNA発現率が有意に下がる傾向を示した(平成20-22年度 科学研究費補助金(若手研究(B)))。

これらの成果を元に、MAPの単回もしくは頻回投与によって受ける脳内線条体の変化について、遺伝子発現率等、分子レベルでのアプローチからMAPの依存形成のメカニズムを明らかにすることが目的である。さらには、これら乱用薬物の依存メカニズムが解明できれば、様々な依存性薬物に対する治療にも応用できるものと考えている。

3. 研究の方法

これまでの実験によって、MAPによる作用の相違が、D1およびDATに関与していること

は否定できない。D1 受容体や DAT の機能的な低下であるか、もしくは密度の低下であるかの評価を行うため、これらの m-RNA 発現量を MAP 投与群と非投与群間で比較する。さらに m-RNA 発現量で有意差が確認された場合、ターゲットのタンパク質量定量を行い、m-RNA で観察された有意差の裏付けを行う。なぜならば、本来生体レベルで機能しているのは、m-RNA から合成されたタンパク質である。mRNA が発現してからタンパク質に合成されるまでには 1 日~1 週間程度を要し、その間にはいくつかの過程が存在する。最終的な機能発現を議論するためには、m-RNA 量のみならずタンパク質の測定が不可欠であるためである。

m-RNA 定量にはリアルタイム PCR および RT-PCR 法を用いた。 コントロール群、MAP 単回投与群および MAP 頻回投与群の 3 群に分け、それぞれの処置を施した全てのラットから線条体・側坐核を採取し、その組織に発現している D1 および DAT の遺伝子発現量 (m-RNA) を測定し、依存形成の中核と言われる部位への MAP の影響について定量的に比較検討した。さらに、有意差の確認された線条体内 DAT の タンパク質量定量には、ウェスタンブロット手法を用いた。 同様に、コントロール群、MAP 単回投与群および MAP 頻回投与群の 3 群に分け、それぞれの処置を施した全てのラット線条体に発現している DAT のタンパク質量を測定した。

それぞれの測定で得られた結果を比較し、m-RNA のどの程度がタンパク質にまで変換され、機能を発揮しているのかを検討した。

⇒ 依存形成に関わるタンパク質量と m-RNA 発現量との相関性の検討と、MAP 頻回投与時の線条体に与える影響について検討する。

4. 研究成果

これまでのところ、我々の研究結果により、アルコールや MAP に対する遺伝的な感受性差は側坐核ではなく線条体の DA (D1) 神経系に存在する可能性が高いこと、また MAP 投与後に DAT-mRNA の発現率が減少する傾向が予備試験において確認されていることから、線条体 D1 および DAT に焦点を絞り、その遺伝子発現率から、依存形成の中核と言われる脳内線条体への MAP の影響について定量的に比較検討した。

初年度にはリアルタイム PCR および RT-PCR 法による線条体における D1 および DAT の m-RNA 発現量の測定を行った結果、MAP 頻回投与群の DAT-mRNA の発現量が、コントロール群に比して顕著に減少していることが明らかとなった。したがって、MAP は DAT 発現を減少させ、DA の再取り込み作用を阻害することによって興奮作用を増強させることが示唆された。

ウェスタンブロット手法を用いて線条体内 DA 受容体および DAT のタンパク質量についての検討を重点的に行なった。その結果、MAP 頻回投与群の DAT-タンパク質の発現量が、コントロール群に比して顕著に減少していることが明らかとなった。この結果は、初年度の DAT-mRNA 発現が有意に低下していた結果を裏付けるものとなった。これらのことから、MAP の頻回投与は線条体の DAT 発現を m-RNA レベルで減少させ、その結果 DAT を構成するタンパク質が生成されないことにより DAT 密度の減少を招くことが推察された。

DAT 密度の減少は、MAP によって増加した細胞間隙内の DA の再取り込み作用を阻害し、慢性的に興奮作用を増強させることが予想され、結果的に MAP による強化に繋がることが示唆された。

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)

[学会発表] (計 1 件)

①第 96 次日本法医学会学術全国集会：西口美紀 他、メタンフェタミン投与時の線状体内下バミントランスポーターのmRNA/蛋白質発現とアルコール嗜好性の関連、2012 年 6 月 8 日、浜松。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

内海 美紀 (UTSUMI MINORI)

兵庫医科大学・医学部・講師

研究者番号：50351797

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：