

## 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25年 5月29日現在

機関番号：13802

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2011～2012

課題番号：23890076

研究課題名（和文） 薬物依存の新規治療法の開発

研究課題名（英文） Novel therapeutic method for drug addiction

研究代表者

村上 元 (MURAKAMI GEN)

浜松医科大学・医学部・特任研究員

研究者番号：70613727

研究成果の概要（和文）：我々が新規に開発した薬物自己投与系を MHC1 欠損マウスに対し用いることで、報酬系の中核である腹側被蓋野における MHC1 の減少が薬物依存形成において重要な役割を担うことを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：Using a novel system for drug self-administration with functional MHC1 deficient mice, we revealed that reduction of MHC1 is critically involved in the development of drug addiction.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2011 年度	900,000	270,000	1,170,000
2012 年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,500,000	450,000	1,950,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：応用薬理学

キーワード：MHC、コカイン、自己投与、ドーパミン、依存

### 1. 研究開始当初の背景

麻薬、大麻、覚せい剤といった薬物依存症は日本でもその患者数が増加しているなど大きな社会問題になってきている。特にメタンフェタミンやコカインといった麻薬では摂取を止めてから長期間経た後でも薬物を探索する行動を繰り返す。すなわち薬物依存である。薬物依存は難治性の精神疾患であり効果的な薬物療法が存在しないために再発率が極めて高い。多くの先行研究によりアル

コールやニコチンを含む薬物依存において、驚くほど共通する分子機構が発見されている。具体的には薬物依存には報酬系をつかさどる神経回路ある中脳腹側被蓋野、側坐核、前頭前野、扁桃核といった脳部位が関与する。また神経細胞間の情報伝達を制御する、長期増強(LTP)や長期抑制(LTD)といったシナプス可塑性がそれぞれの領域で障害を受けることがわかっている。長期の薬物摂取に伴い LTP が長期間にわたって維持される一方、シ

ナプス除去に関係する LTD が抑制される。従って薬物依存脳では、新たに形成されたシナプス結合が摂取を止めた後も長期にわたって除去されない、すなわち”シナプス除去”の破綻がおこる。この破綻が薬物摂取の再発機構であると考えられている。

当グループでは様々な種類の遺伝子改変マウスにコカインを反復投与(強制投与)しその依存を調べた。その結果、免疫分子主要組織適合性複合体抗原クラス I (MHCI) の発現が欠損したマウスでは依存の指標であるコカイン誘発性行動感作が野生型マウスの 3 倍も増加することを発見した。さらに MHCI 欠損マウスでは LTP が有意に増強された。これ等の結果は MHCI がコカインによる依存を抑制することを示している。従来までは免疫特権部位である脳には免疫分子である MHCI は発現しないと考えられていた。しかし近年になり MHCI の発現が脳で発見され、不要になったシナプスをニューロンから取り除く、すなわち”シナプス除去”の脳特異的な働きをすることが示された。またコカイン依存の動物モデルは 1 週間のコカイン反復投与(強制投与)で作製されるが、動物自身が身体に接続されたカニューレを通して投与する自己投与系の方が人間の依存形式をより模倣している。強制投与では 1 ヶ月でその依存は消失してしまうが、自己投与では 3 ヶ月以上持続するといった分子機構の違いも明らかになっている。従って薬物依存の研究には自己投与型依存モデルを用いる必要が示唆されている。しかし自己投与型コカイン依存モデルはラットでは確立しているものの、マウスでは静脈の太さがラットの 1/3 しかないためカニューレを長期間設置しておくことができない。しかし当グループでは今まで培ってきたマイクロダイアリシスの技術を応用し、小脳上槽表面にマイクロダイアリシスの半透膜

を接触させコカインを投与するという全く新しい方法で長期間コカインを脳血管に直接投与できる自己投与系を確立している。

## 2. 研究の目的

本研究は薬物依存における MHCI の影響を調べ、それが作用する脳部位とその作用機構を明らかにし、薬物依存に対する新規治療法の検討をおこなうものである。薬物は依存が顕著であるコカインを用いるが、本研究は全ての薬物依存に含まれる共通した依存機構の解明を目指している。

## 3. 研究の方法

(1) まず自己投与型でも強制投与型コカイン依存マウスと同様に MHCI 欠損マウスでコカイン依存が増加することを確認する。

(2) 次に自己投与型と強制投与型を併用し、薬物が MHCI に与える影響並びにその作用箇所を調べる。具体的にはコカイン依存を含む薬物依存に関与するとされている中脳腹側被蓋野、側坐核、背側前頭前野、扁桃体において、コカインが MHCI に与える影響を調べる。また同時に依存を定量評価するためドーパミン系に関する分子の発現量を比較する。

## 4. 研究成果

(1) MHCI 欠損型マウスに自己投与システムを用いコカイン依存の程度を野生型と比較評価した。実験は野生型マウス、MHCI 欠損型マウスそれぞれに対し自己投与システムを用いて作製したコカイン投与群とその対照として溶媒投与群を作製し 4 群を比較した。その結果 MHCI 欠損型マウスは野生型マウスに比べノーゾポーク回数が約 2 倍上昇することを明らかにしている。この結果は免疫分子である MHCI がコカイン依存において重要な役割を担っていることを裏付け、報酬系における免疫系の関与を明らかにし

ている。

(2) 薬物が脳に発現する MHCI に影響を与えるか調べるため、野生型マウスに対し強制投与システム並びに自己投与システムを用いて作製したコカイン依存群とその対照群の2群から薬物依存に関与する脳部位である中脳腹側被蓋野、海馬、側坐核、前頭前野、扁桃体を取り出し、MHCI の発現量の比較を定量的 PCR 法により調べた。強制投与方法による一週間のコカイン投与をおこなった後、10 日間ホームケージで飼育した野生型のマウスと、対照群としてコカインの代わりに溶媒を投与したマウスの脳から上記の脳部位を取り出し定量的 PCR 法により MHCI の発現量を比較した。その結果 MHCI が強く発現することが知られる中脳のドーパミン系である腹側被蓋野でのみ MHCI の発現が有意に減少することを明らかにした。またコカイン投与により腹側被蓋野のドーパミントランスポーター、ドーパミン合成酵素、ドーパミン受容体 D2 が約 2 倍程度上昇していることを確認している。次に自己投与実験では 10 日間コカインを投与し、続いて 10 日間投与を停止した後、上記と同様に脳を取り出し定量的 PCR 法により MHCI の発現量を比較した。結果は強制投与方法と同様に腹側被蓋野で MHCI の発現が有意に減少することを明らかにした。更に上記のドーパミン系関連分子の発現が MHCI 欠損型マウスでは野生型の約 10 倍も増加していることがわかった。上記の結果は MHCI 欠損型マウスは野生型に比べより強い自己投与による薬物依存を示すことを示している。

以上の成果から、薬物は報酬系の中枢である腹側被蓋野において MHCI の発現を抑制することにより、薬物依存を促進していることが示唆された。また上記の成果は我々が開発したより安定した薬物自己投与システム

を用いることで始めて可能であると考えられる。

#### 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 8 件)

- 1, Hunter R, Murakami G, Dewell S, Seligsohn M, Baker M, Datson N, McEwen BS, Pfaff D. "Acute Stress and Hippocampal H3K9 Tri-methylation, a Retrotransposon Silencing Response" PNAS. 2012, 109, 10657-62
- 2, Ooishi Y, Kawato S, Hojo Y, Hatanaka Y, Higo S, Murakami G, Komatsuzaki Y, Ogiue-Ikeda M, Kimoto T, Mukai H. "Modulation of synaptic plasticity in the hippocampus by hippocampus-derived estrogen and androgen." J Steroid Biochem Mol Biol. 2012. 131, 37-51
- 3, Komatsuzaki Y, Hatanaka Y, Murakami G, Mukai H, Hojo Y, Saito M, Kimoto T, Kawato S. "Corticosterone Induces Rapid Spinogenesis via Synaptic Glucocorticoid Receptors and Kinase Networks in Hippocampus." PLoS One. 7, e34124, 2012
- 4, Ooishi Y, Mukai H, Hojo Y, Murakami G, Hasegawa Y, Shindo T, Morrison JH, Kimoto T, Kawato S. "Estradiol Rapidly Rescues Synaptic Transmission from Corticosterone-induced Suppression via Synaptic/Extranuclear Steroid Receptors in the Hippocampus."

- Cereb Cortex. 22, 926-36, 2011
- 5, Higo S, Hojo Y, Ishii H, Komatsuzaki Y, Ooishi Y, Murakami G, Mukai H, Yamazaki T, Nakahara D, Barron A, Kimoto T, Kawato S. "Endogenous synthesis of corticosteroids in the hippocampus." PLoS One. 6, e21631, 2011
- 6, Mukai H, Hatanaka Y, Mitsuhashi K, Hojo Y, Komatsuzaki Y, Sato R, Murakami G, Kimoto T, Kawato S. "Automated analysis of spines from confocal laser microscopy images: application to the discrimination of androgen and estrogen effects on spinogenesis." Cereb Cortex. 21, 2704-11, 2011
- 7, Murakami G, Ribeiro A, Fontaine C, Hunter R, Pfaff D. "Relationships among estrogen receptor, oxytocin and vasopressin gene expression and social interaction in male mice" Eur J Neurosci. 34, 469-77, 2011
- 8, Litvin Y, Murakami G, Pfaff D. "Effects of Chronic Social Defeat on Physiology and Behavior; Vasopressin, Oxytocin and the Vasopressinergic V1b Receptor" Physiol Behav. 103, 393-403, 2011

[学会発表] (計 1 件)

Murakami G, MENG H, Edamura M, Nakahara D. "Enhanced cocaine self administration in functional mhc class I deficient mice", Society for neuroscience, New Orleans, Oct. 2012

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称 :  
発明者 :  
権利者 :  
種類 :  
番号 :  
出願年月日 :  
国内外の別 :

○取得状況 (計 0 件)

名称 :  
発明者 :  
権利者 :  
種類 :  
番号 :  
取得年月日 :  
国内外の別 :

[その他]  
ホームページ等  
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

村上 元 (MURAKAMI GEN)  
浜松医科大学・医学部・特任研究員  
研究者番号 : 70613727

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし