



# Intra-Striatal Phencyclidine Inhibits N-Methyl-D-Aspartic Acid-Stimulated Increase in Glutamate Levels of Freely Moving Rats

山本, 泰司

---

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

1999-03-31

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲1954

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1001954>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



氏名・（本籍）	やま もと やす じ 山 本 泰 司	（兵庫県）
博士の専攻分野の名称	博士（医学）	
学位記番号	博い第1197号	
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当	
学位授与の日付	平成11年3月31日	
学位論文題目	INTRA-STRIATAL PHENCYCLIDINE INHIBITS N-METHYL D-ASPARTIC ACID-STIMULATED INCREASE IN GLUTAMATE LEVELS FREELY MOVING RATS （無麻酔無拘束ラットにおけるフェンシクリジンの線条体グルタミン酸濃度への影響）	
審査委員	主査 教授 前 田 潔 教授 岡 田 安 弘	教授 千 原 和 夫

## 論文内容の要旨

### 序言

フェンシクリジン（PCP）は、1950年代の終わりに最初、全身麻酔薬として開発された。その後、PCPはヒトに投与すると精神分裂病様の症状を引き起こすことが明らかにされた。PCPによって引き起こされる精神症状は、精神分裂病で見られる陽性および陰性症状の両方を発現することから、PCPを投与した動物は精神分裂病のモデル動物として分裂病研究に利用されている。

1980年、Kimらによって精神分裂病におけるグルタミン酸神経伝達機能の減弱という仮説（精神分裂病の「グルタミン酸仮説」）が提案された。PCPはN-メチル-D-アスパラギン酸（NMDA）受容体の有力な非競合的拮抗薬であることが分かっており、NMDA受容体を介して分裂病症状を惹起する作用を発揮していると考えられている。PCPによる精神分裂病モデルにおいて、線条体のグルタミン酸およびGABAの神経機構に障害が存在するかどうかを知ることは非常に興味深い点である。今回われわれはin vivoでの脳内微小透析法を用いて、自由行動下のラット線条体において、PCP局所灌流による細胞外グルタミン酸およびGABA濃度への影響を調べた。

### 方法

実験には250–350gの雄性ラットを用いた。ハロセン麻酔下にて右側線条体へガイドカニューラを挿入し、測定実験の前日まで無麻酔無拘束の状態で飼育した。

6–8日間の回復期間において、透析プローブをガイドカニューラに挿入し、リンゲル液を流速毎分2μlで灌流した。灌流液の回収は20分毎に行ない、アミノ酸測定分析に用いた。始めに回収した連続4本の灌流液に含まれるアミノ酸濃度の平均値を基礎遊離量とした。透析プローブを介して各処置を行い、その後連続して160分以上灌流液を回収した。回収した灌流液は、電気化学検出器付き高速液体クロマトグラフィー法により分析した。分析後のデータは基礎遊離に対する比率で表わし、統計処理はMann-Whitney U-testおよびtwo-way ANOVAを用いた。各実験の終了後、ラットを断頭し免疫組織化学的にプローブ先端の位置を確認した。

### 結果

無麻酔無拘束下における、ラット右側線条体でのグルタミン酸および GABA の基礎遊離量はそれぞれ  $25.03 \pm 3.75 \text{ nM}$  および  $1.17 \pm 0.09 \text{ nM}$  であった。透析プローブを介した線条体への PCP (1 mM) の局所灌流は、グルタミン酸および GABA の基礎遊離に影響を与えなかった。100mM KCl による脱分極刺激によって遊離の増加したグルタミン酸に対して PCP (0.2–1.0mM) は抑制的に作用したが、GABA の遊離に対しては影響を及ぼさなかった。NMDA (0.2–1.0mM) の線条体への局所投与は、用量依存性にグルタミン酸の細胞外濃度を増加させた。選択性の高い Na チャンネルブロッカーであるテトロドトキシン (TTX: 0.1–10 $\mu\text{M}$ ) を線条体内に局所投与すると、NMDA (0.5mM) の局所投与によって増加したグルタミン酸の遊離を有意に減弱させた。NMDA (0.5mM) の局所投与によるグルタミン酸の放出増加は、PCP (1 mM) の局所投与により有意に抑制された。非競合型 NMDA 受容体拮抗薬である Dizocilpine (MK801: 0.2mM) の局所投与は NMDA の局所投与によるグルタミン酸の放出増加を完全に抑制した。

#### 考察

今回の実験で、無麻酔無拘束ラットの線条体において、高カリウム脱分極刺激および NMDA 刺激により増加したグルタミン酸遊離に対して、PCP の局所投与が抑制効果を及ぼすことが証明された。これは、無麻酔ラットの線条体において PCP の局所投与がグルタミン酸の放出を抑制するということを初めて明らかにした報告である。Yonezawa らは *in vivo* での脳内微小透析法を用いて、PCP (7.5 mg/kg) の腹腔内投与がラットの前部帯状回皮質からの高カリウム脱分極刺激によるグルタミン酸の遊離増加を抑制することを示した。高カリウムは神経終末の脱分極を引き起こし、脳内微小透析法により測定される物質の神経発射への依存性を評価することに利用されている。NMDA 刺激による線条体グルタミン酸遊離に対する PCP 局所投与の抑制効果は過去に報告されていない。線条体は、側坐核と同様に前頭葉からグルタミン酸神経の放出を受けており、PCP 分裂病モデルの重要な部位であると指摘されている。今回われわれは、NMDA の線条体内局所投与が容量依存性に線条体グルタミン酸濃度を増加させ、また MK801 の前投与によってこの増加は抑制されることを証明した。これは、MK801 が線条体内の NMDA 受容体に拮抗することによって、NMDA 刺激によるグルタミン酸遊離を妨げることを意味する。過去の *in vivo* での脳内微小透析法による実験でもわれわれと同様の結果が報告されているが、逆に NMDA 受容体拮抗薬の局所投与が、ラット線条体のグルタミン酸の基礎遊離を増加させるという報告もある。これらの相反する結果について Liu らは、線条体内には異なる亜型の興奮性アミノ酸受容体によるグルタミン酸の放出に対する持続性の抑制作用が存在し、病的状態で生じる多量のグルタミン酸遊離のような高濃度の作動薬の存在下では、前シナプス性の正のフィードバック機構が、基礎遊離の環境下で作用している自己調節機構に打ち勝つためではないかと述べている。

グルタミン酸遊離を調節する NMDA 受容体が線条体内のどこに存在するのかという疑問が湧いてくる。Bustos らはこの疑問に対して、皮質線条体路のグルタミン酸神経終末の前シナプス受容体、皮質線条体路の神経終末とは別の線条体内神経上の NMDA 受容体、または後シナプス NMDA 受容体の 3 つの可能性を提案している。

ナトリウムチャンネルブロッカーである TTX は、神経活動を調べるために用いられている。線条体への TTX の局所投与が NMDA 刺激によるグルタミン酸遊離を抑制したことは、NMDA 刺激によるグルタミン酸遊離が神経プール由来であり、NMDA 受容体が前シナプス神経終末上には存在しないことを意味する。Bogdanov らも、NMDA 刺激によるグルタミン酸遊離の増加はおもに神経伝達物質由来であると報告しており、さらに彼らによると、NMDA 受容体の刺激による一酸化窒素 (NO)

の産生増加は、線条体内 NMDA 受容体の刺激によって引き起こされるグルタミン酸遊離の増加を介するという。

また、PCP 受容体は求心性の神経終末ではなく、主に神経細胞上に存在するという報告もある。最近、Rawls らは線条体内の後シナプス性グルタミン酸遊離を引き起こす NMDA 受容体は、グルタミン酸神経の前シナプス神経終末上には存在しないことを意味する。しかし、幾つかの報告は生体内での自己受容体による興奮性アミノ酸の遊離調節機構の存在を支持しており、線条体内のグルタミン酸神経終末上の NMDA 自己受容体の存在の有無は議論の余地がある。

最近、ドーパミン、グルタミン酸、GABA、アセチルコリンが線条体において、それぞれ自らの遊離および他の神経伝達物質の遊離を調節していることが判明した。アセチルコリンの遊離を促進する NMDA 受容体は、アセチルコリン神経の神経細胞上にあり、この受容体の刺激は [3H] アセチルコリンの遊離を増加させる。線条体内アセチルコリン神経からアセチルコリンが遊離する結果、主に黒質線条体ドーパミン神経終末からのドーパミン遊離を増加させる。

Carlsson らは分裂病脳の基底核における、グルタミン酸神経系とモノアミン神経系の相互作用についての試験的な図式を提案している。この図式では、線条体においてドーパミンは GABA 神経上に位置するドーパミン D2 受容体に作用し、GABA の遊離を抑制するという。Greenamyre らは線条体から淡蒼球への抑制性 GABA 神経の放出を報告しており、最近 Ferraro らは視床における GABA 遊離の抑制がこの部位でのグルタミン酸遊離を増加させるという報告をしている。線条体での NMDA 受容体を介するドーパミン神経の刺激は、淡蒼球-視床路 GABA 神経を抑制することを介して、視床皮質路グルタミン酸神経伝達を促進することになるのであろう。これらの結果、最終的には皮質線条体路グルタミン酸神経が刺激されることになる。PCP は線条体内アセチルコリン介在神経の後シナプス NMDA 受容体に拮抗し、また一部は黒質線条体路ドーパミン神経終末上の前シナプス受容体を拮抗すると考えるのが最も合理的であるように思われる。

## 結論

in vivo での脳内微小透析法による実験結果より、無麻酔無拘束ラットの線条体への PCP の局所投与は、NMDA 刺激によるグルタミン酸遊離の増加を低下させた。このことは、PCP はまず最初に線条体内のアセチルコリン介在神経の後シナプス NMDA 受容体結合を抑制し、次に皮質線条体-視床皮質路の負のフィードバックループを抑制することで説明できる。この PCP のグルタミン酸神経伝達に対する拮抗的作用が、分裂病の精神症状に関係している可能性が考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

フェンシクリジン (PCP) は1950年代の終わりに全身麻酔薬として開発されたが、その後ヒトに投与すると精神分裂病様の症状を引き起こすことが明らかにされた。現在では PCP を投与した動物は精神分裂病のモデル動物として分裂病研究に利用されている。PCP はグルタミン酸受容体の一つである、N-メチル-D-アスパラギン酸 (NMDA) 受容体の強力な非競合的拮抗薬であり、NMDA 受容体を介して分裂病症状を惹起していると考えられている。そこで本研究者はラット線条体において in vivo Microdialysis 法を用いて PCP が細胞外グルタミン酸濃度にどのような影響を及ぼすかについて調べた。

ラットの線条体に透析プローブを留置し、リンゲル液で灌流した。透析プローブを介して各処置を行ない、その後灌流液を回収した。回収した灌流液は、電気化学検出器付き逆相カラム高速液体クロ

マトグラフィ法により分析した。統計処理は Mann-Whitney U-test および two-way ANOVA を用いた。

KCl による脱分極刺激によって増加したグルタミン酸遊離に対して PCP は抑制的に作用した。NMDA の局所投与は容量依存性にグルタミン酸の細胞外濃度を増加させた。NMDA によるグルタミン酸の遊離増加は、PCP により有意に抑制された。非競合型 NMDA 拮抗薬である MK801 は NMDA によるグルタミン酸の放出増加を完全に抑制した。Na チャンネルブロッカーであるテトロドトキシン (TTX) を局所投与すると、NMDA によって増加したグルタミン酸の有利を有意に減弱させた。

本研究者は線条体において PCP がグルタミン酸の放出を抑制することを初めて明らかにした。PCP の腹腔内投与がラットの前部帯状回皮質からのグルタミン酸の遊離増加を抑制することはすでに報告されているが、線条体は前頭葉からグルタミン酸神経線維を受けており、PCP 分裂病モデルの重要な部位である。われわれはまた NMDA の線条体内投与が線条体グルタミン酸濃度を増加させ、また MK801 によってこの増加は抑制されることを証明した。この PCP のグルタミン酸の放出を抑制する作用が、分裂病の精神症状に関係している可能性があると考えられた。

本研究は PCP の精神分裂病モデル動物について、その線条体細胞外グルタミン酸濃度への影響を研究したものであるが、従来ほとんど行われなかった無麻酔無拘束ラットでの in vivo 脳内微小透析法を用いたグルタミン酸神経伝達に対する拮抗的作用について重要な知見を得たものとして価値ある集積であると認める。よって、本研究者は、博士 (医学) の学位を得る資格があると認める。