

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 池窪 結子
学位 博士 (医学)
学位記番号 新大院博 (医) 第 975 号
学位授与の日付 令和3年3月23日
学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当
博士論文名 Absence of methamphetamine-induced conditioned place preference in weaver mutant mice.
(Weaver 変異型マウスにおける methamphetamine 報酬効果の消失)

論文審査委員 主査 教授 笹岡 俊邦
副査 教授 阿部 学
副査 准教授 武井 延之

博士論文の要旨

背景と目的

覚醒剤などの薬物やアルコール、ニコチンなどの物質に対する依存、あるいはギャンブルやゲームなどの特定の行動に対する依存 (嗜癖) は脳内の神経伝達の異常により引き起こされる。依存症発症には様々な脳領域や生体分子が関連することが報告されているが、未だ依存症に対する有効な治療法は確立されていない。G 蛋白質活性化型内向き整流性カリウム (GIRK) チャネルは、4 つのサブユニットで構成され、GIRK1、GIRK2、GIRK3 サブユニットは主に中枢神経系に発現しており、認知機能や学習、記憶、感情、運動機能の調整などに関与している。中でも GIRK2 サブユニットは依存性薬物による行動変化に重要な役割を担っていることが報告されている。一方、GIRK2 サブユニットに自然発生型の遺伝子変異を有する weaver 変異型マウスは、GIRK2 機能低下やドパミンシグナル伝達系の異常を持ち、さらに様々な依存性薬物によって引き起こされる行動が野生型マウスと異なっていることが報告されている。しかしながら、weaver 変異型マウスにおける薬物報酬効果変容に関する検討はほとんど行われておらず、詳細なメカニズムは不明瞭な点が多い。また、覚醒剤であるメタンフェタミン (methamphetamine) は本邦において主要な乱用薬物である。したがって本研究では、weaver 変異型マウスにおけるメタンフェタミンの報酬効果の変化について検討を行った。

方法

実験には、野生型および weaver 変異型マウスのヘテロ接合体同士を交配することにより作成したマウスを用いた。メタンフェタミン (4.0 mg/kg、腹腔内投与) の報酬効果は、条件付け場所嗜好性試験により評価した。また、休薬 28 日後に場所嗜好性が消失していることを確認した後、メタンフェタミン (0.5 mg/kg、腹腔内投与) を投与し、メタンフェタミンの再燃性を検討した。メタンフェタミンによる脳内ドパミン遊離量変化は、in vivo マイクロダイアリシス法を用いて検討した。側坐核内の細胞外ドパミン量が安定したことを確認した後、メタンフェタミンを投与し、ドパミン遊離量変化を測定した。さらに、weaver 変異型マウスにおけるメタンフェタミンによる報酬効果の変容に関連する脳領域を明らかにするために、

メタンフェタミン (4.0 mg/kg) 投与後の脳サンプルを用いて、「依存」と関連性があると報告されている腹側被蓋野、側坐核吻側および尾側の core、shell 領域の細胞活性の変容を c-Fos 発現変化を指標とした免疫組織化学的解析により検討した。

結果

GIRK2 の機能変化とメタンフェタミン条件付け場所嗜好性の関連性を検討したところ、野生型マウスおよびヘテロ接合体においてメタンフェタミン条件付け場所嗜好性および再燃性が確認されたのに対して、weaver 変異型マウスにおいてはメタンフェタミン条件付け場所嗜好性ならびに再燃性は認められなかった。次に、ドパミン遊離量を測定したところ、weaver 変異型マウスでは、野生型マウスと比較して側坐核内の細胞外ドパミンの基礎遊離量に有意な差が認められた。さらに側坐核におけるメタンフェタミン誘発細胞外ドパミン量上昇は、野生型および weaver 変異型マウスともに認められたが、weaver 変異型マウスのドパミン遊離の増加程度は野生型と比較して緩やかであった。さらに、メタンフェタミン投与による脳内活性化領域を検討したところ、野生型マウスでは、腹側被蓋野、側坐核吻側 core、shell および側坐核尾側 core において、c-Fos 発現量に増加傾向が見られ、特に側坐核尾側 shell 領域においては c-Fos 発現量の顕著な増加が認められた。しかしながら、weaver 変異型マウスではどの領域においてもメタンフェタミン投与による c-Fos 発現量の変化はなく、特に側坐核尾側 shell におけるメタンフェタミン誘発 c-Fos 発現は有意に低下していた。

考察

条件付け場所嗜好性試験および in vivo マイクロダイアリス試験の結果より、weaver 変異型マウスではメタンフェタミン条件付け場所嗜好性は消失し、メタンフェタミンによる側坐核のドパミン遊離量上昇は減弱していることが明らかになった。また、免疫組織化学的解析の結果より、野生型マウスと weaver 変異型マウスにおいて、特に側坐核尾側 shell 内の神経活性に大きな差が認められた。以上の結果から、weaver 変異型マウスにおけるメタンフェタミン条件付け場所嗜好性の消失のメカニズムとして、メタンフェタミンの報酬効果発現に至るためのドパミン量が weaver 変異型マウスでは不十分である、あるいは GIRK2 サブユニットの機能低下によって引き起こされた報酬系の神経伝達に異常があると考えられた。また、GIRK2 サブユニットを含んだ GIRK チャネルの機能低下によって引き起こされた側坐核尾側 shell 内のなんらかの神経系の活動不全により、報酬関連学習や記憶過程に障害が生じてメタンフェタミンで条件付けされたボックスを記憶することができなかった可能性も考えられる。

結論

Weaver 変異型マウスにおいてメタンフェタミン条件付け場所嗜好性は消失する。この消失は、GIRK2 サブユニットの機能低下による直接的あるいは間接的な側坐核尾側 shell 領域の神経活動不全によって引き起こされた報酬系に関わる神経伝達異常、もしくは報酬関連学習または記憶の減弱によるものと示唆された。本研究から、GIRK2 サブユニットを含む GIRK チャネルが覚醒剤依存形成に重要な役割を担うことが示され、GIRK チャネルの制御は覚醒剤依存症治療などにおいて有用性を持つ可能性が考えられる。

審査結果の要旨

覚醒剤などの薬物やアルコール、ニコチンなどの物質に対する依存、あるいはギャンブルやゲームなどの特定の行動に対する依存は脳内の神経伝達の異常により引き起こされる。依存症発症には様々な脳領域や生体分子が関連することが報告されているが、未だ依存症に対する有効な治療法は確立されていない。G 蛋白質活性化型内向き整流性カリウム (GIRK) チャネルは、認知機能や学習、記憶、感情、運動機能の調整などに関与している。

本研究では、GIRK2 サブユニットに自然発生型変異を有する weaver 変異型マウスを用いて、GIRK2 機能

変化による薬物報酬効果の変容を検討する。

Weaver 変異型マウスにおいてメタンフェタミン条件付け場所嗜好性は消失する。この消失のしくみは、メタンフェタミンによる側坐核のドーパミン遊離量上昇は減弱していること、あるいはGIRK2 サブユニットの機能低下による直接的あるいは間接的な側坐核尾側 shell 領域の神経活動不全によって引き起こされた報酬系に関わる神経伝達異常、もしくは報酬関連学習または記憶の減弱によるものと示唆された。本研究から、GIRK2 サブユニットを含む GIRK チャンネルが覚醒剤依存形成に重要な役割を担うことが示され、GIRK チャンネルの制御は覚醒剤依存症治療などにおいて有用性を持つ可能性が考えられる。

以上、本研究は、覚醒剤依存形成のしくみの解明、及び治療薬開発の可能性を示したことに大きな貢献があり、学位論文としての価値を認める。