

氏 名	ひき だ たか とし 正 田 貴 俊
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2443 号
学位授与の日付	平 成 14 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 生 理 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Increased sensitivity to cocaine by cholinergic cell ablation in nucleus accumbens (側坐核コリン作働性神経細胞の除去によるコカインへの感受性の増大)
論文調査委員	(主 査) 教 授 大 森 治 紀 教 授 柴 崎 浩 教 授 中 西 重 忠

論 文 内 容 の 要 旨

薬物依存は、有効な治療法が少なく、大きな社会問題となっている。強い中枢神経刺激薬であるコカインは、腹側被蓋野のドーパミン神経細胞の神経終末上に存在するドーパミン・トランスポーターを遮断し、側坐核内の遊離ドーパミン量を上昇させることによって、報酬系を賦活する。薬物摂取を反復すると精神依存を引き起こし、意志で制御できない薬物摂取への渴望と薬物探索行動が生じるが、その病態の多くは未解明である。薬物依存形成に関して、ドーパミンの役割がよく解析されてきたのに対して、側坐核内の主要な神経伝達物質であるアセチルコリンの役割については明らかでなかった。

本研究では、薬物依存形成におけるアセチルコリンの役割を明らかにするため、イムノトキシンによる細胞標的破壊法を用いてアセチルコリン作働性インターニューロンを破壊したマウスの生体におけるコカインに対する感受性を解析した。

1) 側坐核のアセチルコリン作働性インターニューロンは代謝型グルタミン酸受容体2型(mGluR2)を発現している。そこで、mGluR2 遺伝子のプロモーター領域直下にヒト・インターロイキン2型(IL-2)受容体 α サブユニットと緑色蛍光蛋白の融合遺伝子を発現させたトランスジェニックマウスの側坐核にヒトIL-2受容体を特異的に認識するイムノトキシンを局所投与した。脳切片の免疫組織染色法にて、側坐核内のコリンアセチルトランスフェラーゼ陽性細胞の脱落が見られ、これにより、ヒトIL-2受容体が発現されたトランスジェニックマウスの側坐核アセチルコリン作働性インターニューロンのみを特異的に破壊できることを確認した。

2) アセチルコリン作働性インターニューロンの運動機能制御を調べるために、一側の側坐核にイムノトキシンを投与し、回転行動を観察した。トランスジェニックマウスは、イムノトキシンを投与後3日後に非投与側への回転行動が見られた。その後回転行動は消失したが、コカインの全身投与により、再び回転行動が観察された。

3) 次にコカインの慢性投与に対するマウスの行動を観察した。まず、両側の側坐核にイムノトキシンを投与したマウスにコカインを連日投与し、移所行動量を測定した。トランスジェニックマウスと野生型マウスは共に同じ濃度のコカイン反復投与に対して、次第に移所行動量が増大していく逆耐性現象が観察されたが、アセチルコリン作働性インターニューロンが破壊されたマウスは全行程において、野生型マウスと比較して、有意に高い移所行動量を示した。また、一側の側坐核のアセチルコリン作働性インターニューロンが破壊されたマウスは、コカインの連日投与によって回転行動数が増加した。この2種類の逆耐性現象から、コカインの依存形成に関わる慢性効果においても、アセチルコリンが拮抗的に作用していることが示された。

4) コカインの精神依存への強化作用を調べるために、条件付け場所嗜好性テストを行った。両側の側坐核にイムノトキシンを投与したマウスに対して、3日間のコカイン投与による場所の条件付けを行ったところ、野生型マウスは濃度依存的にコカインと条件付けした場所への嗜好性を獲得した。それに対して、アセチルコリン作働性インターニューロンが破壊されたマウスは、より低い濃度のコカイン投与による条件付けであっても、コカインと条件付けした場所への強い嗜好性が観察された。

以上の結果から、側坐核内のアセチルコリン作働性インターニューロンの破壊により、コカインへの感受性が増大することが明らかとなった。従って、側坐核のアセチルコリンはコカインの依存形成に拮抗的に作用していると結論づけられた。

論文審査の結果の要旨

本論文は遺伝子工学的手法を用い側坐核アセチルコリン作働性インターニューロンを選択的に破壊し、側坐核アセチルコリンのコカイン感受性における役割を解析したものである。

側坐核アセチルコリン作働性インターニューロンに特異的にヒトインターロイキン2型受容体(hIL-2R)を発現させた組換え遺伝子導入マウスを用いて、hIL-2Rを特異的に認識するイムノトキシンを側坐核に局所投与することにより、マウス成熟個体から選択的に側坐核アセチルコリン作働性インターニューロンを除去する実験系を確立した。一側の側坐核アセチルコリン作働性インターニューロンを破壊したマウスは、コカインの全身投与により非破壊側への回転行動を示した。この回転行動数はコカインの連日投与により増大した。さらに両側の側坐核アセチルコリン作働性インターニューロンを破壊すると、コカインの連日投与後の移所行動量が有意に増加した。また、条件付け場所嗜好性テストにおいてもより低い濃度のコカイン投与によってコカインに条件付けした場所への強い嗜好性が観察された。上記の結果から、側坐核内のアセチルコリン作働性インターニューロンの破壊により、コカインへの感受性が増大すると結論づけられた。

以上の研究は、側坐核のアセチルコリンがコカインの依存形成に拮抗的に作用していることを明らかにしたものであり、薬物依存の病態解明や治療法の開発に寄与するところが多い。したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成14年1月9日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。