新生仔期 5-HT 系損傷ラットの防御性覆い隠し反応

筑波大学 山田郁子・松原武史・岩崎庸男¹

Effect of neonatal serotonergic lesion on defensive burying in rats

IKUKO YAMADA, TAKESHI MATSUBARA and TSUNEO IWASAKI
University of Tsukuba

Abstract A large body of evidence has shown the involvement of serotonin (5-HT) in anxiety. Anxiety level appears to be correlated with brain 5-HT level. A selective serotonergic neurotoxin, 5,7-dihydroxytryptamine (5,7-DHT), reduces brain 5-HT content, and produces anxiolytic effect when administered to adult rats. When a 5,7-DHT is administered to neonatal rats, it produces anxiogenic effect in elevated plus-maze test (Yamada & Iwasaki, 2002). In the elevated plus-maze test, passive avoidance of open platforms is the major index of anxiety, while in the defensive burying test, the major index of anxiety is the active burying of a spatially discrete shock-source. In the present study, we examined the effects of neonatal 5,7-DHT treatment on anxiety level in the defensive burying test. The results showed that neonatal 5,7-DHT treatment decreased 5-HT levels in cortex, hippocampus, and striatum, but increased in hypothalamus, midbrain, and medulla oblongata. In behavioral test, neonatal 5,7-DHT treatment decreased the latency to defensive burying and increased the duration of burying. These behavioral results suggest that the neonatal 5,7-DHT produces anxiogenic effect. The results demonstrate the differential effects of neonatal 5,7-DHT treatment on anxiety level and brain 5-HT system as compared with adult 5,7-DHT treatment.

Key Words : serotonin (5-HT), 5,7-dihydroxytryptamine (5,7-DHT), anxiety, defensive burying, rat.

神経伝達物質の1つである serotonin (5-HT) は、様々な動物実験において不安関連行動に関わっていることが示唆されており (Chopin & Briley, 1987), 数多くの動物実験と臨床研究によって、不安において 5-HT が果たす役割について研究されてきた。一般に、5-HT 機能の低下によって不安が減少し、5-HT 機能の亢進によって不安が増加するといわれている (Chopin & Briley, 1987; Iversen, 1984)。5-HT アンタゴニストの投与によって 5-HT 機能が低下すると、コンフリクト課題 (Schreiber & Vry, 1993), 高架式十字迷路 (Belcheva, Belcheva, Petkov, & Petkov, 1994; Kostowski, Dyr, Krzascik, Jarbe, &

Archer, 1992), 防御性覆い隠し反応 (Treit, Robinson, Rotzinger, & Pesold, 1993) といった動物における不安モデルにおいて抗不安効果が生じる。また 5-HT 合成阻害薬である *p*-chlorophenylalanine 投与でも、高架式十字迷路と防御性覆い隠し反応で顕著な抗不安効果が生じる (Treit et al., 1993)。

5-HT の神経伝達を変化させる様々な薬物を用いた研究が行われているが、その中の1つで 5-HT の選択的神経毒である 5,7-dihydroxytryptamine (5,7-DHT) を成体ラットの脳室内に投与すると、長期間にわたって脳内全体の 5-HT 含量が著しく減少し (Baumgarten, Björklund, Lachenmayer, & Nobin, 1973; Baumgarten, Björklund, Lachenmayer, Rensch, & Rosengren, 1974), 5-HT 含量の回復は生じない (Breese & Cooper, 1975)。5-HT 神経系に及ぼす 5,7-DHT の作用は、投与時期によって著し

1 連絡先 e-mail : iwasakit@human.tsukuba.ac.jp
〒305-8572 つくば市天王台1-1-1
筑波大学心理学系

く異なる。成体期に5,7-DHTを投与されたラットでは、神経終末が損傷されるが、細胞体はほとんど無傷である(Baumgarten et al., 1974; Baumgarten, Klemm, Sievers, & Schlossberger, 1982)のに対して、新生仔期に5,7-DHTを投与された場合は重篤な5-HT神経の細胞死がみられ(Breese, Vogel, & Mueller, 1978), 長期間にわたる5-HTの涸渇と、神経終末部の変性および細胞体の脱落が生じる(Towle, Breese, Mueller, Coyle, & Lauder, 1984)。また、新生仔期5,7-DHT投与による5-HTの減少は投与後300日以上をすぎても回復が生じないため(Breese et al., 1978), この5-HT減少は永続的なものであると考えられる。

成体期に5,7-DHTを脳内に投与されたラットでは、コンフリクト課題(Söderpalm & Engel, 1991, 1992; Tye, Everitt, & Iversen, 1977), 高架式十字迷路課題(Briley, Chopin, & Moret, 1990), 防御性覆い隠し反応(Fernández-Guasti, López-Rubalcava, Pérez-Urizar, & Castañeda-Hernández, 1992)などにおいて不安の減少がみられる。しかし、こういった報告はいずれも成体期に5,7-DHTを投与したものであり、新生仔期に5,7-DHTを投与して不安について検討した報告はほとんどない。

山田・岩崎(2002)は、新生仔期5,7-DHT投与によって高架式十字迷路におけるopen-armでの滞在時間が減少し、不安の増加が生じることを報告している。しかし、新生仔期に5,7-DHTを投与して不安関連行動について検討した報告は非常に少なく、5,7-DHT投与による不安の増加はほかに報告されていない。

高架式十字迷路課題は、壁に囲まれた狭い通路(closed-arm)と、壁のない解放された通路(open-arm)から構成されている。通常ラットはopen-armよりもclosed-armのほうを好み、open-armに進入した割合を不安の尺度として用いる。Treit et al. (1993)は、高架式十字迷路課題はopen-arm, すなわち嫌悪刺激を回避するという“受動的”な反応を測定する課題であるため、防御性覆い隠し反応のような“能動的”な反応を測定する課題と組み合わせて検討することが重要であると示唆している。

防御性覆い隠し反応は一部の齧歯類に特有な防御反応の1つで、ショック源がはっきりと定位できる状況においてラットがショックを受けたときに、ショック源に対して巣材を前肢や鼻部を使って押したり浴びせかけたりして、嫌悪刺激であるショック源を覆い隠してしまうというものである(Pinel & Treit, 1978)。ラットにとって嫌悪的であると考えられる様々な対象に向けられること(Terlecki, Pinel, & Treit, 1979; Wilkie, MacLennan, & Pinel, 1979), 嫌悪刺激の脅威度が増すにつれ、短い潜時で、かつ生起時間が

延長することなどから(Treit, Pinel, & Terlecki, 1980), 防御性覆い隠し反応は不安を測定する課題として用いられている(Treit & Fundytus, 1988; Tsuda, Ida, & Tanaka, 1988)。成体期5,7-DHT投与によって防御性覆い隠し反応が減少することが報告されているが(Fernández-Guasti et al., 1992), 我々の知る限りでは、新生仔期5,7-DHT投与についての報告はない。そこで本実験では、新生仔期脳内5-HT系損傷が防御性覆い隠し反応に及ぼす効果を検討することを目的とした。

方 法

被験体

筑波大学動物実験棟内で兄妹交配により維持・飼育されているFischer (F344/Du)系アルビノラット(10匹)から産まれた仔46匹(雄24匹, 雌22匹)を被験体として用いた。リターサイズは4~9匹で、リターサイズの統制は行わなかった。生後から離乳までは、おがくずの敷かれたプラスチックケージ(26×41×19cm)で母ラットと一緒に飼育した。生後28日齢で離乳した後は、床が金網でできたステンレスケージ(43×23×21cm)で数匹ずつ集団飼育した。餌水は自由摂取とした。飼育室の室温は常時22~26℃に調節し、室内蛍光灯による明暗サイクルは明期12時間(8:00~20:00), 暗期12時間(20:00~8:00)とした。本実験は筑波大学動物実験委員会の承認を得て、倫理的配慮の下に行われた。

新生仔期5,7-DHT投与

生後2日齢時に、仔ラットをランダムに5,7-DHT投与群23匹(雄12匹, 雌11匹)と溶媒投与群23匹(雄12匹, 雌11匹)の2群に割り当て、2日齢時と4日齢時に、新生仔期5,7-DHT投与を行った。リターによる偏りが生じないように、同一リターから各群にそれぞれ被験体を割り当てた。5,7-DHT投与によりnoradrenaline (NA)系が損傷されるおそれがあるので、NA系の保護のため、desmethylinipramine 20mg/kgを頸部に皮下投与した。その60分後にdiethyl ether 軽麻酔下で、手製の固定台の上に頭部を固定して投与を行った。溶媒投与群には溶媒(0.1%のascorbic acidを含むsaline) 3μlを、また、5,7-DHT投与群には溶媒3μlに溶かした5,7-DHT 60μgを、2日齢時には右側脳室に、4日齢時には左側脳室にそれぞれ投与した(投与総量: 120μg/6μl)。Bregmaより前後に0.0mm, 外側に1.0mm, 頭皮表面より深さ3.0mmの位置に、流速3μl/min.で投与した。投与後、傷口を消毒し蘇生させてから母親ラットのもとへ戻し、離乳までマターナルケージ内で飼育した。

装置

床面から5cmの高さまでおがくずを敷き詰めた透明なプラスチック製のケージ(26×41×19cm)を用いた。ショック棒を挿入するための穴を装置の短辺の中央、高さ7cmの位置にあけた。直径5mm、長さ5cmのプラスチック製の棒に導線を巻き付けたショック棒にショックジェネレーター(小原医科産業)を接続し、電流(4mA)がショック棒から流れるようにした。また、被験体の行動をビデオ装置(CCD-CRV 90, SONY)で録画した。

手続き

51日齢時から53日齢時に装置馴化を行い、54日齢時にベースライン測定を、55日齢時にテストを行った。装置馴化では装置に各被験体を15分間投入し、装置内を自由に探索させた。このときショック棒は挿入しなかった。54日齢時のベースライン測定では、ショック棒を挿入した装置に被験体を投入し、被験体がショック棒に触ってから15分間の行動をビデオ装置で録画した。ここでは、電撃は与えなかった。

55日齢時のテスト時には、ショック棒を挿入した装置に被験体を投入し、ショック棒に触れて電撃を受けてから15分間の行動を録画した。被験体がショックを受けたか否かは、ショック棒接触直後の反射的驚愕反応の有無で判定した。また、ショックを与えた直後にショックジェネレーターの電源を切り、ラットが再びショック棒に触れても電撃を受けないようにした。

ビデオ再生時に、各被験体の行動を以下に挙げた行動項目ごとに観察、記録した。

- ・ Number of contacts : ショック棒への接触回数
- ・ Latency : 最初に防御性覆い隠し反応が起こるまでの潜時
- ・ Number of defensive burying : 防御性覆い隠し反応の生起回数
- ・ Duration of defensive burying : 防御性覆い隠し反応の総持続時間

生化学的分析

行動実験終了後、5,7-DHT 処置による脳内物質の変化を検討するため、行動実験に用いた被験体の一部をランダムに選び、モノアミンおよびその代謝物質の組織含量を測定した。測定した被験体は、5,7-DHT 投与群18匹(雄9匹、雌9匹)、溶媒投与群21匹(雄11匹、10匹)であった。

脳組織の分割：行動実験終了後に断頭を行い、取り出した脳を氷冷したステンレス板上で、Glowinski & Iversen (1966)を参考に脳皮質、海馬、線条体、視床下部、中脳、延髄の6部位に分割した。各組織

はドライアイス上で急速凍結させた。この作業は断頭後5分以内に行った。各組織の湿重量を測定し、定量分析時まで-70℃で保存した。

分析装置：各組織中に含まれるモノアミンおよびその代謝物質を、電気化学検出器と組み合わせた高速液体クロマトグラフ(HPLC-ECD, EICOM)を用いて定量した。HPLC-ECDの作業条件は以下の通りであった。電気化学検出器の印加電圧は500mVと10Vとした。移動相の流速は0.17ml/minであった。移動相の構成は14% (v/v) の methanol および240.3mg/l の sodium 1-octanesulfonate, 10mg/l の disodium ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA-2Na), 70mM の citric acid monohydrate, 100mM の sodium acetate であった (pH3.9)。

脳内物質の定量：各組織サンプルに1mlの perchloric acid 水溶液 (0.1N; 100 μM の EDTA-2Na を含む) を加え、その後20秒間ホモジネートしてから遠心分離 (15,000rpm × 15min, 0℃) を行った。上清 5 μl を HPLC-ECD の分析に用いた。その結果得られた各物質のクロマトグラム面積より各組織 1g あたりの物質含量を求めた。

測定した物質は、noradrenaline (NA), dopamine (DA), DA の代謝物質である 3,4-dihydroxyphenyl acetic acid (DOPAC) と homovanillic acid (HVA), 5-hydroxytryptamine (serotonin, 5-HT), 5-HT の代謝物質である 5-hydroxyindole-3-acetic acid (5-HIAA) であった。

結 果

防御性覆い隠し反応

Table 1 に各行動項目の結果をまとめて示した。ベースライン測定時(電気ショックなし)とテスト時(電気ショック後)におけるショック棒への接触回数に関しては、テスト時のほうがベースライン時と比べて、5,7-DHT 投与群、溶媒投与群とも有意に接触回数が少なかった。2要因の分散分析を行ったところショックの主効果のみが有意で ($F[1, 44] = 49.65$, $p < .01$), 5,7-DHT 投与による効果はみられなかった。

ラットが電撃棒に触れてショックを受けた後、防御性覆い隠し反応を開始するまでの平均潜時は、5,7-DHT 投与群が溶媒投与群よりも短かった。潜時については2群の分散が等質でなかったため Welch の検定を行ったところ、有意な差がみられた ($t[23] = 2.10$, $p < .05$)。また、5,7-DHT 投与群のほうが溶媒投与群よりも防御性覆い隠し反応の持続時間が長く、差は有意であった ($t[44] = 2.40$, $p < .05$)。防御性覆い隠し反応の生起数は、5,7-DHT 投与群の

Table 1. Effects of neonatal 5,7-DHT treatment on the defensive burying behavior
Data are expressed as mean $\pm$ SD

	Vehicle	5,7-DHT
Number of contacts to shock probe		
Baseline	18.0 $\pm$ 9.9	16.4 $\pm$ 8.5
After-shock	8.4 $\pm$ 6.7	8.1 $\pm$ 7.8
Defensive burying		
Latency (s)	172.6 $\pm$ 281.2	48.1 $\pm$ 43.4 *
Number of occurrences	29.8 $\pm$ 33.5	48.2 $\pm$ 30.5
Duration (s)	45.6 $\pm$ 46.2	82.2 $\pm$ 56.7 *

*: $p < .05$ vs Vehicle

ほうが溶媒投与群よりも多い傾向がみられたが、有意な差ではなかった ($t [44] = 1.95$, $p < .10$)。

生化学的分析

溶媒投与群、および5,7-DHT投与群の脳内5-HT含量と5-HT代謝回転をFigure 1に示した。5,7-DHT投与群の5-HT含量は、溶媒投与群と比較して増加している部位と減少している部位とがあった (Figure 1A)。各部位ごとに t 検定をおこなったところ、大脳皮質 ($t [37] = 9.83$, $p < .01$)、海馬 ($t [37] = 12.38$, $p < .01$)、および線条体 ($t [37] = 2.97$, $p < .01$) では5,7-DHT投与群の5-HT含量は溶媒投与群よりも有意に少なかった。また、視床下部 ($t [37] = 4.96$, $p < .01$)、中脳 ($t [37] = 2.75$, $p < .01$)、延髄 ($t [37] = 2.61$, $p < .05$) では逆に、5,7-DHT投与群の5-HT含量は溶媒投与群よりも有意に多かった。

5-HIAA含量も5-HT含量とよく似た傾向を示し、大脳皮質 ($t [37] = 10.64$, $p < .01$)、海馬 ($t [37] = 10.99$, $p < .01$)、線条体 ($t [37] = 3.07$, $p < .01$) では5,7-DHT群のほうが溶媒投与群よりも5-HIAA含量が有意に少なかった。一方、視床下部 ($t [37] = 2.51$, $p < .05$) では5,7-DHT群の5-HIAA含量は有意に多く、また延髄では有意ではないものの5,7-DHT群のほうが5-HIAA含量が多い傾向がみられた。

5-HTの代謝回転(5-HIAA/5-HTの比)をFigure 1Bに示した。大脳皮質 ($t [37] = 2.70$, $p < .05$)、海馬 ($t [37] = 4.78$, $p < .01$) では5,7-DHT群の方が有意に代謝回転が高くなっていた。一方、視床下部 ($t [37] = 4.40$, $p < .01$)、中脳 ($t [37] = 3.12$, $p < .01$)、延髄 ($t [37] = 2.93$, $p < .01$) では、溶媒投与群に比べ5,7-DHT投与群の代謝回転は有意に低かった。

Figure 1. Effects of neonatal 5,7-DHT treatment on brain 5-HT content (A) and 5-HT turnover (5-HIAA/5-HT; B). Data of 5-HT content are represented as mean tissue levels in ng/g wet tissue weight ($\pm$ SD). Cort: Neocortex, Hipp: Hippocampus, Str: Striatum, Hypo: Hypothalamus, MB: Midbrain, MO: Medulla oblongata. **: $p < .01$; *: $p < .05$, as compared with Vehicle.

NA, DA, および DA の代謝物質である DOPAC と HVA は、いずれの部位においても処置による差はみられず、5,7-DHT 投与の影響を受けていなかった。

考 察

本実験の結果、ラットが電気ショックを受けた後のショック棒への接触回数は、溶媒投与群、5,7-DHT 投与群の両方で減少し、5,7-DHT 投与の効果は見られなかった。このことから、どちらの群でもショック棒に対する嫌悪性は同程度であったと考えることができる。したがって、覆い隠し反応においてみられた行動の差は、ショックによって誘発されたショック棒に対する対処行動の差を反映したものであるといえることができる。

5,7-DHT 投与群では、被験体がショックを受けてから覆い隠し行動を始めるまでの潜時が有意に減少していた。また、総持続時間に有意な増加がみられ、有意ではないものの生起数も 5,7-DHT 投与群のほうが多い傾向がみられた。防御性覆い隠し反応が増加している時には不安が高くなっているとされている (Tsuda, et al., 1988) ことから、新生仔期 5,7-DHT 投与によって不安が増加したと考えられる。成体期に 5,7-DHT 投与を受けた場合には、防御性覆い隠し反応課題において不安が減少するという報告がある (Fernández-Guasti et al., 1992)。しかし、今回の実験では新生仔期 5,7-DHT 投与によって不安の増加がみられ、成体期 5,7-DHT 投与とは逆の結果であった。新生仔期 5,7-DHT 投与によって、高架式十字迷路課題で不安が増加するという報告があり (山田・岩崎, 2002)、本実験の防御性覆い隠し反応でも不安の増大が生じることが示された。嫌悪刺激源を受動的に回避する課題である高架式十字迷路と、能動的に回避する課題である防御性覆い隠し反応との両方で新生仔期 5,7-DHT 投与による不安の増加がみられることから、活動性や探索欲求などの要因による行動の変化ではなく、不安が増加したのだといえるであろう。

行動実験終了後に被験体の脳内 5-HT 含量を測定した結果、視床下部、中脳、延髄で 5-HT 含量の有意な増加が、大脳皮質、海馬、線条体では有意な減少がみられた (Figure 1A)。脳幹部での 5-HT 含量の増加は、成体期に 5,7-DHT を投与した場合には全くみられないため (Baumgarten et al., 1973; Baumgarten et al., 1974; Briley et al., 1990; Tye et al., 1977)、これは 5-HT 損傷時期の違いによるものであると考えられる。

新生仔期に 5,7-DHT 投与を受けた場合は重篤な 5-HT 神経の細胞死がみられ (Breese et al., 1978)、長期

間にわたる 5-HT の涸渇と、神経終末部の変性および細胞体の脱落が生じることが知られている (Towle et al., 1984)。本実験では、なぜ脳幹で 5-HT 含量の増加がみられたのであろうか。その原因として投与経路の違いが考えられる。本実験では側脳室内に 5,7-DHT 投与を行っているが、先行研究で新生仔期 5,7-DHT 投与を行っている研究では、そのほとんどが大槽内に 5,7-DHT を投与している (Breese & Cooper, 1975; Breese et al., 1978; Lytle, Jacoby, Nelson, & Baumgarten, 1975; Towle et al., 1984)。これらの先行研究では 50~100 μg の 5,7-DHT を投与しているが、本実験では 120 μg の 5,7-DHT を投与しているので用量が少なかったために毒性が弱かったとは考えにくい。一方、側脳室内に 50 μg ~100 μg の 5,7-DHT を新生仔期に投与されたラットでは、脳のほとんどの部位で 5-HT 含量が減少したにも関わらず、視床下部や脳幹では 5-HT 含量の減少が生じなかったという報告がある (Erinoff & Snodgrass, 1986; Mercugliano, Nguyen, Djali, & Lucki, 1996)。このことから、新生仔期に側脳室内投与を行った場合には、視床下部と延髄では 5,7-DHT の 5-HT 損傷効果が弱くなるという可能性がある。また、腹腔内に新生仔期に 100 μg の 5,7-DHT 投与を行った研究でも、脳幹部での 5-HT 含量の増加が報告されている (Pranzatelli, Huang, Dollison, & Stanley, 1989)。本研究で 5-HT が増加していた部位は視床下部、中脳、延髄であり、脳幹部に相当する部位と考えて良いであろう。

新生仔期に 5,7-DHT を皮下投与すると、投与の直後では皮質と橋-延髄の両方で ^3H -5-HT の取り込みが減少する。皮質での取り込みはその後減少したままだが、橋-延髄では急速な回復が生じ、1 週間後には ^3H -5-HT 取り込みの増加がみられる (Sachs & Jonsson, 1975)。また、5-HT 含量は ^3H -5-HT の取り込みと同じ傾向を示し、皮質での減少と延髄での増加が生じる (Ponzio & Jonsson, 1978; Sachs & Jonsson, 1975)。脳幹部で一旦減少した ^3H -5-HT の結合が急速に増加したということは、遠位の 5-HT 神経終末が 5,7-DHT によって '刈り込み (pruning)' されたことによって、起始核の近傍では残存したニューロンが補償作用によって逆に '発芽 (sprouting)' して神経終末の生成が促進され、hyperinnervation が生じたと考えられる (Ponzio & Jonsson, 1978)。本実験の 5,7-DHT 投与群で延髄の 5-HT 含量が増加していたのは、5,7-DHT を側脳室に投与したために脳幹部での 5-HT 損傷効果が弱くなり、なおかつこの hyperinnervation が生じることによって 5-HT の生産量が増加したためではないかと考えられる。

新生仔期 5,7-DHT 投与群の 5-HT 代謝回転は、溶

媒投与群と比較して大脳皮質、海馬では有意に高くなっていた。一方、視床下部、中脳、延髄の代謝回転は逆に有意に低くなっていた。海馬はシナプス後 5-HT_{1A} レセプターの豊富な部位であり、ここに 5-HT_{1A} アゴニストである 8-OH-DPAT を投与すると他個体との社会的相互作用が減少し、不安の増加が生じる。また、5-HT 神経系の起始核である縫線核は延髄にあるが、この近傍はシナプス前 5-HT_{1A} レセプターが豊富な部位であり、ここに 8-OH-DPAT を投与すると海馬に投与した場合とは逆に社会的相互作用が増加し、不安が減少する (Andrews, Hogg, Gonzalez, & File, 1994; File, Gonzales, & Andrews, 1996)。このことから、縫線核の 5-HT 神経系が抑制されると不安が減少し、海馬の 5-HT 神経系が賦活されると不安が増大すると考えられる。本実験では、5,7-DHT 投与群は溶媒投与群とくらべ海馬、皮質での代謝回転が高くなっていた。これはシナプス後 5-HT_{1A} レセプターが豊富な部位での 5-HT 活性が高かったということであり、そのために不安が増加したと考えられる。また、5,7-DHT 投与群では脳幹部位での 5-HT 代謝回転が低くなっていたが、シナプス前の 5-HT オートレセプターが豊富な部位で 5-HT 活性が低かったということは、辺縁系への 5-HT 放出量が増加したと考えられ、そのために不安の増加が生じた可能性がある。

5-HT_{1A} 受容体をノックアウトされたマウスでは、成体期に不安の増加が生じる。しかし、前脳の 5-HT_{1A} レセプターを新生仔期に回復させた被験体では、縫線核のレセプターは欠損したままでも野生系のマウスと同様の不安行動を示す。このことから、発達初期において前脳の 5-HT_{1A} レセプターが正常に機能していることが、成体期における“正常な”不安の発現に重要であることが示唆されている (Gross, Zhuang, Stark, Ramboz, Oosting, Kirby, Santarelli, Beck, & Hen, 2002)。したがって、本実験で不安の増加を示した新生仔期 5,7-DHT 投与ラットでは、大脳皮質など前脳部で 5-HT 含量が減少していたことから、不安が増大したのは縫線核の起始核近傍で hyperinnervation が生じていたためではなく、前脳の 5-HT_{1A} レセプターが損傷されたためではないかとも考えられる。しかし、大槽内に新生仔期 5,7-DHT 投与をするとき縫線核で ³H-8-OH-DPAT の取込みが減少するが、大脳皮質には効果がないことから (Pranzatelli, Durkin, & Barkai, 1994)、側脳室内に 5,7-DHT を投与した場合でも前脳の 5-HT レセプターは減少していない可能性がある。しかし、新生仔期大槽内 5,7-DHT 投与が 5-HT レセプターにおよぼす効果は側脳室内投与の場合とは大きく異なっており、大槽内に新生仔期 5,7-DHT 投与を受けたラットでは、5-HT レセプターの感受性が高まり、5-HT の前駆物質である 5-HTP

を投与することによって 5-HT シンドロームが生じるが (Breese et al., 1978; Pranzatelli et al., 1989, Pranzatelli, Dollison, & Huang, 1990)、新生仔期に側脳室に 5,7-DHT を投与した場合、脳幹部で 5-HT 含量が増加していたラットでは 5-HT シンドロームは生じず、5-HT レセプターの機能亢進はみられないという報告がある (山田・岩崎, 2002)。そのため、本実験の結果のみからでは前脳の 5-HT_{1A} レセプターが損傷されたために不安が増加したのか、あるいは縫線核の起始核近傍で hyperinnervation が生じていたために不安が増加したのかを峻別することは困難である。

本実験の結果から、不安関連行動に及ぼす 5,7-DHT 投与の効果は、成体期投与と新生仔期投与とで全く逆の効果をもたらすという可能性が示唆された。5,7-DHT の投与時期による作用差のメカニズムや 5-HT レセプターにおよぼす効果については、今後さらなる検討が必要である。

要 約

セロトニン (5-HT) は動物の不安関連行動に深く関与しており、5-HT の選択的神経毒である 5,7-dihydroxytryptamine (5,7-DHT) を成体ラットに投与すると、脳内 5-HT 量の低減と抗不安効果が生じることが知られている。山田・岩崎 (2002) は、新生仔期 5,7-DHT 投与によって高架式十字迷路で open-arm での滞在時間が減少し、不安の増加が生じることを報告している。しかし、新生仔期に 5,7-DHT を投与して不安関連行動について検討した報告は非常に少なく、5,7-DHT 投与による不安の増加はほかに報告されていない。Treit et al. (1993) は、高架式十字迷路課題は open-arm、すなわち嫌悪刺激を回避するという“受動的”な反応を測定する課題であるため、防御性覆い隠し反応のような“能動的”な反応を測定する課題と組み合わせて検討することが重要であると示唆している。そこで本実験では、防御性覆い隠し反応課題を用いて新生仔期脳内 5-HT 系損傷の効果を検討した。新生仔期 5,7-DHT 投与群では大脳皮質、海馬、線条体で 5-HT 含量が減少していたが、視床下部、中脳、延髄では逆に増加していた。また、5,7-DHT 投与によって防御性覆い隠し反応の総持続時間の増加と、潜時の減少とがみられた。不安レベルが高くなると防御性覆い隠し反応は増加することから、新生仔期 5-HT 損傷によって不安が増大したと考えられる。以上の結果から、5,7-DHT 投与による新生仔期脳内 5-HT 系損傷は、成体期 5-HT 損傷とは行動的にも生化学的にも異なった効果を示すことが明らかになった。

引用文献

- Andrews, N., Hogg, S., Gonzalez, L. E., & File, S. E. 1994 5-HT_{1A} receptors in the median raphe nucleus and dorsal hippocampus may mediate anxiolytic and anxiogenic behaviours respectively. *European Journal of Pharmacology*, **264**, 259-264.
- Baumgarten, H. G., Björklund, A., Lachenmayer, L., & Nobin, A. 1973 Evaluation of the effects of 5,7-dihydroxytryptamine on serotonin and catecholamine neurons in the rat CNS. *Acta Physiologica Scandinavica*, **391**, 1-19.
- Baumgarten, H. G., Björklund, A., Lachenmayer, L., Rensch, A., & Rosengren, E. 1974 De- and regeneration of the bulbospinal serotonin neurons in the rat following 5,6- or 5,7-dihydroxytryptamine treatment. *Cell and Tissue Research*, **152**, 271-281.
- Baumgarten, H. G., Klemm, H. P., Sievers, J., & Schlossberger, H. G. 1982 Dihydroxytryptamines as tools to study the neurobiology of serotonin. *Brain Research Bulletin*, **9**, 131-150.
- Belcheva, I., Belcheva, S., Petkov, V. V., & Petkov, V. D. 1994 Hippocampal asymmetry in the behavioral responses to the 5-HT_{1A} receptor agonist 8-OH-DPAT. *Brain Research*, **640**, 223-228.
- Breese, G. R., & Cooper, B. R. 1975 Behavioral and biochemical interactions of 5,7-dihydroxytryptamine with various drugs when administered intracisternally to adult and developing rats. *Brain Research*, **98**, 517-527.
- Breese, G. R., Vogel, R. A., & Mueller, R. A. 1978 Biochemical and behavioral alterations in developing rats treated with 5,7-dihydroxytryptamine. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **205**, 587-595.
- Briley, M., Chopin, P., & Moret, C. 1990 Effect of serotonergic lesion on "anxious" behaviour measured in the elevated plus-maze test in the rat. *Psychopharmacology*, **101**, 187-189.
- Chopin, P., & Briley, M. 1987 Animal models of anxiety: the effect of compounds that modify 5-HT neurotransmission. *Trends in Pharmacological Sciences*, **8**, 383-388.
- Erinoff, L., & Snodgrass, S. R. 1986 Effects of adult or neonatal treatment with 6-hydroxydopamine or 5,7-dihydroxytryptamine on locomotor activity, monoamine levels, and response to caffeine. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, **24**, 1039-1045.
- Fernández-Guasti, A., López-Rubalcava, C., Pérez-Urizar J., & Castañeda-Hernández, G. 1992 Evidence for a postsynaptic action of the serotonergic anxiolytics: ipsapirone, indorenate and buspirone. *Brain Research Bulletin*, **28**, 497-501.
- File, S. E., Gonzales, L. E., & Andrews, N. 1996 Comparative study of pre- and postsynaptic 5-HT_{1A} receptor modulation of anxiety in two ethological animal tests. *Journal of Neuroscience*, **16**, 4810-4815.
- Glowinski, J., & Iversen, L. L. 1966 Regional studies of catecholamines in the rat brain—I The disposition of [³H]norepinephrine, [³H]dopamine and [³H]dopa in various regions of the brain. *Journal of Neurochemistry*, **13**, 655-669.
- Gross, C., Zhuang, X., Stark, K., Ramboz, S., Oosting, R., Kirby, L., Santarelli, L., Beck, S., & Hen, R. 2002 Serotonin_{1A} receptor acts during development to establish normal anxiety-like behaviour in the adult. *Nature*, **416**, 396-400.
- Iversen, S. D. 1984 5-HT and anxiety. *Neuropharmacology*, **23**, 1553-1560.
- Kostowski, W., Dyr, W., Krzascik, P., Jarbe, T., & Archer, T. 1992 5-Hydroxytryptamine_{1A} receptor agonists in animal models of depression and anxiety. *Pharmacology & Toxicology*, **71**, 24-30.
- Lytle, L. D., Jacoby, J. H., Nelson, M. F., & Baumgarten, H. G. 1975 Long-term effects of 5,7-dihydroxytryptamine administered at birth on the development of brain monoamines. *Life Sciences*, **15**, 1203-1217.
- Mercugliano, M., Nguyen, H., Djali, S., & Lucki, I. 1996 Developmental alterations in 5-hydroxytryptamine concentration and turnover after treatment of neonatal rats with 5,7-dihydroxytryptamine. *Neurobiology*

- of *Learning and Memory*, **65**, 163-176.
- Pinel, J. P. J., & Treit, D. 1978 Burying as a defensive response in rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, **92**, 708-712.
- Ponzio, F., & Jonsson, G. 1978 Effects of neonatal 5,7-dihydroxytryptamine treatment on the development of serotonin neurons and their transmitter metabolism. *Developmental Neuroscience*, **1**, 80-89.
- Pranzatelli, M. R., Dollison, A. M., & Huang, Y. 1990 The functional significance of neonatal 5,7-dihydroxytryptamine lesions in the rat: response to selective 5-HT_{1A} and 5-HT_{2,1C} agonists. *Brain Research Bulletin*, **24**, 747-753.
- Pranzatelli, M. R., Durkin, M. M., Barkai, A. I. 1994 Quantitative autoradiography of 5-hydroxytryptamine_{1A} binding sites in rats with chronic neonatal 5,7-dihydroxytryptamine lesions. *Developmental Brain Research*, **80**, 1-6.
- Pranzatelli, M. R., Huang, Y., Dollison, A. M., & Stanley, M. 1989 Brainstem serotonergic hyperinnervation modifies behavioral supersensitivity to 5-hydroxytryptophan in the rat. *Developmental Brain Research*, **50**, 89-99.
- Sachs, C., & Jonsson, G. 1975 5,7-dihydroxytryptamine induced changes in the postnatal development of central 5-hydroxytryptamine neurons. *Medical Biology*, **53**, 156-164.
- Schreiber, R., & Vry, J. D. 1993 Neuronal circuits involved in the anxiolytic effects of the 5-HT_{1A} receptor agonists 8-OH-DPAT, ipsapirone and buspirone in the rat. *European Journal of Pharmacology*, **249**, 341-351.
- Söderpalm, B., & Engel, J. A. 1991 Involvement of the GABA_A/ benzodiazepine chloride ionophore receptor complex in the 5,7-DHT induced anticonflict effect. *Life Sciences*, **49**, 139-153.
- Söderpalm, B., & Engel, J. A. 1992 The 5,7-DHT-induced anticonflict effect is dependent on intact adrenocortical function. *Life Sciences*, **51**, 315-326.
- Terlecki, L. J., Pinel, J. P. J., & Treit, D. 1979 Conditioned and unconditioned defensive burying in the rat. *Learning and Motivation*, **10**, 337-350.
- Towle, A. C., Breese, G. R., Mueller, R. A., Coyle, S., & Lauder, J. M. 1984 Early postnatal administration of 5,7-DHT: Effects on serotonergic neurons and terminals. *Brain Research*, **310**, 67-75.
- Treit, D., & Fundytus, M. 1988 A comparison of buspirone and chlordiazepoxide in the shock-probe / burying test for anxiolytics. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, **30**, 1071-1075.
- Treit, D., Pinel, J. P. J., & Terlecki, L. J., 1980 Shock intensity and conditioned defensive burying in rats. *Bulletin of the Psychonomic Society*, **16**, 5-7.
- Treit, D., Robinson, A., Rotzinger, S., & Pesold, C. 1993 Anxiolytic effects of serotonergic interventions in the shock-probe burying test and the elevated plus-maze test. *Behavioural Brain Research*, **54**, 23-34.
- Tsuda, A., Ida, Y., & Tanaka, M. 1988 The contrasting effects of diazepam and yohimbine on conditioned defensive burying in rats. *Psychobiology*, **16**, 213-217.
- Tye, N. C., Everitt, B. J., & Iversen, S. D. 1977 5-Hydroxytryptamine and punishment. *Nature*, **268**, 741-743.
- Wilkie, D. M., MacLennan, A. J., & Pinel, J. P. J. 1979 Rat defensive behavior: Burying noxious food. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, **31**, 299-306.
- 山田郁子・岩崎庸男 2002 新生仔期および成体期 5,7-dihydroxytryptamine 処置ラットの高架式十字迷路における“不安”行動 日本神経精神薬理学雑誌, **22**, 145-151.

(2002.5.20 受稿, 2002.11.25 受理)