

Changes in Brain Catecholamines as the Causative Factor of Hyperactivity : An Examination in Developing Rats

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/8288

多動の発症要因としての脳内カテコールアミンの変動： 幼若モデルラットにおける検討

金沢大学医学部小児科学講座（主任：谷口 昂教授）
南 聡

（平成3年6月22日受付）

脳内カテコールアミン (catecholamine, CA) 系の成熟過程ならびにその選択的持続的減少が運動量に及ぼす影響を幼若ラットで検討した。脳内 CA 含量は年齢依存性に増加しノルエピネフリン (norepinephrine, NE) は6週齢で、ドーパミン (dopamine, DA) はそれより遅れて成熟レベルに達した。[³H] スピペロンによる DA 受容体解析では D₂ 受容体は加齢につれ著明に結合部位、親和性ともに増加し4週齢で成熟した。運動量の生理的な増加は D₂ 受容体の成熟過程と並行していた。新生仔ラットに化学的交感神経遮断剤 6-hydroxydopamine (6OHD) を皮下または脳槽内投与し NE 減少群, DA 減少群, NE と DA 減少群 (CA 減少群) の3群を作成した。基底核, 前大脳皮質で目的の CA が対照群より60~90%減少し, 3週齢で最低値をとった。DA 減少群は2から3週齢に多動をきたし以後正常化し, その D₂ 受容体は加齢につれ結合部位は増加したが親和性は逆に低下した。また, 低濃度の D₂ 受容体作動薬アポモルフィンで過敏に反応し多動となった。NE 減少群, CA 減少群は2週齢で寡動であったが以後正常化した。DA と NE の前駆体 L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) 投与で DA 減少群, CA 減少群は著明に旋回と常同運動を繰り返したが, NE の前駆体 L-threo-3, 4-dihydroxyphenylserine (DOPS) 投与では逆に鎮静化し, DOPS 前処置により L-DOPA による多動は抑制された。正常ラットの運動量を低下させる D₁ 受容体拮抗剤, D₂ 受容体拮抗剤, 自己受容体作動薬を2週齢の DA 減少群に投与したところ D₂ 受容体拮抗剤のみが多動を阻害した。以上より, 新生仔からの持続的基底核 DA 減少は発達期に多動をもたらすその主因は D₂ 受容体の除神経性過敏であると推察された。また, その発症には NE 神経の温存と前大脳皮質の基底核 DA 運動制御系に対する抑制作用の減少も関与することが示唆された。

Key words ドーパミン, ノルエピネフリン, 脳内神経伝達物質, ドーパミン受容体, 多動

Vogt¹⁾が脳内にノルエピネフリン (norepinephrine, NE) が存在し特に視床下部に多いことを, Carlsson²⁾が脳内にドーパミン (dopamine, DA) が存在し特に黒質線条体に多いことを報告して以来, 中枢神経系におけるカテコールアミン (catecholamine, CA) の分布と生理的意義が追求されてきた。その結果 CA は運動, 学習, 感情, 食欲, 睡眠, ホルモン分泌などの多彩な脳機能の調節に関与する神経伝達物質であることが判明した³⁾。

臨床的には Ehringer⁴⁾がパーキンソン病患者の黒質線条体に DA が減少していることを報告, その前駆物質 L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) が治療に奏効を示す⁵⁾ことに始まり, その後うつ病⁶⁾, 精神分裂病⁷⁾, アルツハイマー型痴呆⁸⁾, 自閉症⁹⁾など広範な精神神経疾患の病態に, 脳内 CA またはインドールアミン (indoleamine) が密接に関与していることが明らかとなりつつある。

Shaywitz¹⁰⁾は新生仔ラットに化学的交感神経遮

Abbreviations: CA, catecholamine; DA, dopamine; DOPAC, 3,4-dihydroxyphenylacetic acid; DOPS, L-threo-3,4-dihydroxyphenylserine; 5HIAA, 5-hydroxyindol-3-acetic acid; 5HT, 5-hydroxytryptamine; HVA, homovanillic acid; L-DOPA, L-3,4-dihydroxyphenylalanine;

断剂 6-hydroxydopamine (6OHD) を投与し脳内 DA の選択的減少を起こすと多動, 学習障害をもたらすことを報告した。この病態は小児の多動を伴う注意欠陥障害の実験動物モデルとして期待されたが, その後否定的な報告¹⁰⁻¹³⁾もあり脳内 CA と多動との関連について一致した明確な見解は得られていない。今回, 発達期のラットで脳内 CA 系の成熟過程並びに持続的脳内 CA の減少が運動量に及ぼす影響を検討した。さらに, 多動の主因は DA か NE かあるいは両者のバランスか, および DA 受容体サブクラスとの関連も合わせて検討した。

材料および方法

I. 実験動物

Wistar 系新生仔ラットを12時間周期の明暗サイクルで飼育し実験に使用した。離乳時期は生後4週とし, 屠殺実験の12時間前には絶食した。

II. 薬物投与方法

1. NE 減少群, CA 減少群, DA 減少群の作成

脳内 CA の持続的選択的減少が運動量におよぼす影響を検討するため, 次の3群を作成した。NE 減少群には生後12時間以内に 6OHD (Sigma, St. Louis, 米国) 100mg/kg 皮下注射を1回施行した。NE および DA 減少群 (CA 減少群) には 6OHD 100 μ g (100 μ g/25 μ l 溶液) 脳槽内投与を生後5日目より隔日3回施行した。DA 減少群には CA 減少群と同様の処置に加え, 前処置としてモノアミン再取り込みを阻害する三環系抗うつ剤デシプラミン (desipramine, Sigma) 20mg/kg を1時間前に腹腔内投与した。6OHD は 0.1%アスコルビン酸を含む生理食塩水に溶解し使用した。各処置群に対応して, 6OHD を含まない溶液を同様の方法で投与したラットを各対照群とした。2週から5週齢に運動量を, 6週齢に脳内各部位の CA 含量, DA 受容体を測定した。また, DA 減少群は3週齢の24時間の運動量と2週から5週齢まで経時的に脳内 CA 含量と DA 受容体を測定した。

2. L-threo-3,4-dihydroxyphenylserine (DOPS), L-DOPA 投与による急性効果の測定

NE 前駆物質である DOPS (住友製薬, 大阪)¹⁴⁾, DA と NE 前駆物質である L-DOPA (Sigma) の効果は, 対照群, 各処置群に投与し, 運動量の変化 (2時間) で検討した。MAO (monoamine oxydase) 阻害剤で

あるパージリン (pargyline, Sigma) 30mg/kg を測定の60分前に, DOPS, L-DOPA 各 100mg/kg を30分前に腹腔内注射した。また, DA 減少群には L-DOPA 投与30分前に DOPS 前処置した場合の運動量も測定した。DOPS, L-DOPA は 0.5%メチルセルロース溶液に懸濁し, パージリンは 0.01N HCl に溶解して投与した。

3. DA 受容体作動薬, 拮抗剤による急性効果の測定

各 DA 受容体サブクラスの運動に及ぼす作用を見るため, 後シナプス DA 受容体作動薬アポモルフィン (apomorphine, Sigma) (選択性 $D_2 > D_1$), D_1 受容体拮抗剤 SKF83566 (RBI, Natick, 米国)¹⁵⁾, D_2 受容体拮抗剤スピペロン (spiperone, エーザイ, 東京), 前シナプス DA 受容体 (自己受容体) 作動薬 (-)-3-(3-hydroxyphenyl)-N-n-propylpiperidine [(-) 3PPP, Sigma]¹⁶⁾ をそれぞれ DA 減少群, 対照群に腹腔内注射し直ちに運動量 (2時間) を測定した。アポモルフィン, SKF83566, (-) 3PPP は生理食塩水に, スピペロンは 0.01N HCl に溶解して投与した。

III. 測定方法

1. 脳内 CA, インドールアミンおよびそれらの代謝産物含量の測定

脳内 CA, インドールアミンおよびそれらの代謝産物は高速液体クロマトグラフィー法¹⁷⁾にて分離, 定量した。これらの物質の死後変化を極力抑えるために, マイクロ波照射装置 NJE2603-10kw 型 (新日本無線, 東京) を使用して屠殺した。照射出力は 10kw, 照射時間は 0.9秒とした。断頭し全脳を取り出し Gispens¹⁸⁾の方法に従い基底核, 前大脳皮質, 視床下部, 視床, 小脳, 橋+延髄, 中脳, 海馬, 後大脳皮質の9部位に分割した。脳試料は重量を測定後9倍量の 0.1M 過塩素酸溶液を加えホモジェナイズし, 冷却遠心 (15000rpm, 20分間) 後, その上清 (30 μ l) を測定用の試料とした。高速液体クロマトグラフィーは送液ポンプ LC-5A (島津, 京都), 分離カラム TSK-gel ODS-80TM (東ソー, 東京), 電気化学的検出器 Coulochem5100 型 (ESA, Bedford, 米国), コンディショニングセル 5021 型 (+0.55 Volt), 高感度分析セル 5011 型 (T1-0.02 Volt, T2-0.42 Volt) を用いた。移動相は 0.1M クエン酸緩衝液 (pH4.8) 1l にエチレンジアミン 4 酢酸 2 ナトリウム 40mg, ヘプタンスルホン酸ナトリウム 400mg, 8%有機溶媒 (アセトニトリ

MAO, monoamine oxydase; MHPG, methoxy-4-hydroxyphenylethylene glycol; NE, norepinephrine; 6OHD, 6-hydroxydopamine; (-) 3PPP, (-)-3-(3-hydroxyphenyl)-N-n-propylpiperidine

ル：メタノール＝2：1）を加えたものを脱気して使用した。流速は0.9ml/分，カラム温度は35°Cとした。NE（保持時間3.2分），DOPAC（3,4-dihydroxyphenylacetic acid）（5.0分），MHPG（3-methoxy-4-hydroxyphenylethylene glycol）（5.2分），DA（6.0分），5HIAA（5-hydroxyindole-3-acetic acid）（8.0分），HVA（homovanillic acid）（9.0分），5HT（5-hydroxytryptamine）（14.0分）の7分画を測定し，求めた含量はng/g組織で表した。

2. 運動量の測定

運動量の測定は外部から遮音され，白熱灯下で一定の照度，空調により一定気温（22°C）に保たれている測定室にて行った。装置は小動物運動解析装置 ANIMATE AT-420 型（東洋産業，富山）を使用した。この装置は外径 32cm，内径 16cm，通路幅 8cm，深さ 13.2cm のドーナツ型アクリル製ケージにラットを一匹ずつ入れ，底面および周囲に設置された144個の近赤外線センサーでその行動を3次元的に捕捉する構造である。今回は単位時間当たりの動作回数，移動時間，移動距離，立ち上がり回数，方向反転回数の5項目について解析した。従来用いられてきた箱型の装置内でラットは隅にとどまる習性があるが，今回使用した装置は隅のないドーナツ型のためラットには十分な

幅の通路が無限に続くこととなり自然な行動を測定できる点で優れている。処置，対照群ともに生後2週から5週毎に1週毎に4回測定した。一回の測定時間は2時間で，午前9時から午後9時の点灯下に行った。ケージに入れて15分後に測定を開始し，測定中は飲水のみ可能とした。

3. D₂受容体の解析

D₂受容体は [³H] スピペロン（NEN，Boston，米国）を用いたラジオ・レセプター・アッセイ¹⁹⁾²⁰⁾にて解析した。エーテル麻酔下に断頭屠殺し，直ちに線条体を摘出，20倍量の氷冷 50mM Tris-HCl 緩衝液（pH 7.7）を加えホモジェナイズ後，超遠心（50000×g，20分間，4°C）しその沈渣を粗膜分画とした。さらに，Lowry 法²¹⁾にて蛋白定量し 2mg/ml に調整した。50mM Tris-HCl 緩衝液（pH 7.4）に 120mM NaCl，5mM KCl，1mM MgCl₂，1mM CaCl₂ を添加した反応液 850μl に粗膜分画 100μl と [³H] スピペロン 50μl を混合し 20°C，90分間インキュベーションした。その後，粗膜分画を吸引濾過器（Brandel，Gaithersburg，米国）にて分離，洗浄し液体シンチレーションカウンタ LSC-1000（アロカ，東京）にて放射活性を測定した。特異的結合は 10μM スルピリド（sulpiride，Sigma）存在下と非存在下の差として求め， [³H] スピペロン濃

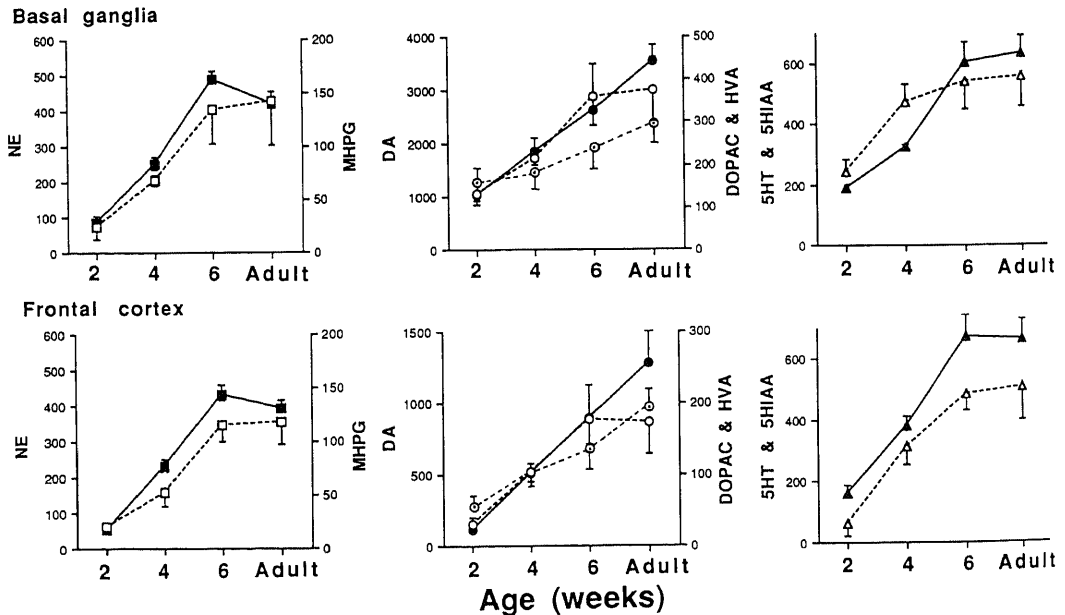


Fig. 1. Age-dependent changes of the contents of catecholamines, indoleamines and their metabolites in basal ganglia (upper panel) and frontal cortex (lower panel) in normal rats. Values are expressed as ng/g tissue. Vertical bar shows mean \pm SD. Numbers of rats used were 6. —■—, NE; ...□..., MHPG; —●—, DA; ...○..., DOPAC; ...○..., HVA; —▲—, 5HT; ...△..., 5HIAA.

Table 1. Distributions of catecholamines, indoleamines and their metabolites in the 9 different brain regions of normal rat

	NE	MHPG	DA	DOPAC	HVA	5HT	5HIAA
Basal ganglia	195±53	24±4	2003±102	220±29	196±22	604±71	540±89
Frontal cortex	340±40	26±2	893±135	108±10	101±12	674±97	307±36
Hypothalamus	656±151	28±4	627±125	120±13	70±5	535±104	490±73
Thalamus	256±15	29±4	557±46	97±7	65±4	499±181	439±57
Cerebellum	122±12	48±2	21±4	18±1	16±7	350±52	209±52
Pons+medulla	158±25	61±7	66±2	39±5	31±5	593±44	525±25
Mesencephalon	301±27	33±9	144±45	50±11	44±12	792±130	923±180
Hippocampus	196±36	26±7	160±64	31±4	30±6	309±145	300±29
Occipital cortex	103±11	33±8	220±49	34±5	42±5	512±74	224±32

Values are expressed as ng/g tissue. Results (means±SD) are obtained from 5 rats at 6 weeks of age.

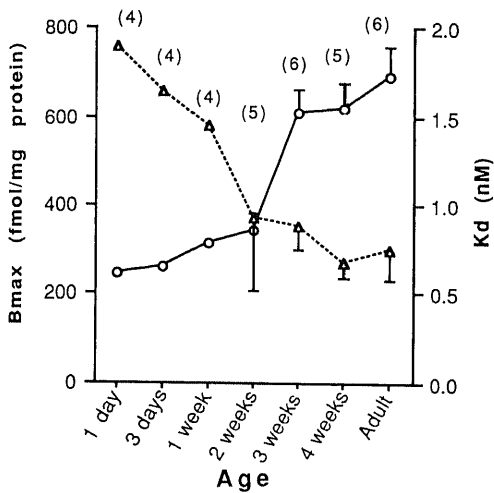


Fig. 2. Age-dependent changes of the maximal number of binding sites (Bmax) of the dopaminergic receptor for [³H] spiperone and the apparent dissociation constant (Kd) of D₂ receptors (dopaminergic receptors of D₂ sites) in normal rats brain striatum. Scatchard analysis was used to determine Bmax and Kd. Values are mean±SD. Numbers of rats used in parenthesis. Bmax and Kd of neonatal rats 1 day, 2 days and 1 week of age were measured using pooled striatal homogenates. —○—, Bmax; ...△..., Kd.

度を 0.3nM から 10nM の間で段階的に変えて飽和実験を行い、Scatchard 解析²⁹⁾にて最大結合能 (Bmax) と解離定数 (Kd) を求めた。

IV. 統計学的処理

得られた数値はすべて平均値±標準偏差 (mean±SD) で示した。二群間の平均値の差の検定には Student t 検定を用いた。多群間の平均値の差の検定

には一元配置分散分析後 Scheffé 多重比較検定を用いた。なお、危険率 5%以下を統計学的に有意差ありと判定した。

成 績

I. 正常ラットにおける脳内 CA 系と運動量の発達過程

基底核、前大脳皮質における脳内 CA、インドールアミンおよびその代謝産物含量の加齢に伴う推移を追った (図 1)。NE 系は両部位とも 2 週齢では成熟ラットの 20% で、その後増加し 6 週齢で一定となった。DA 系は NE 系より成熟が遅れ、加齢に従い増加を続けた。5HT 系は NE 系と同様 6 週齢で成熟した。6 週齢の正常ラットの脳内 CA 含量の部位別測定値を表 1 に示した。DA は基底核に、NE は視床下部に多く、5HT 系は均等に分布していた。

線条体 D₂受容体の加齢に伴う Bmax と Kd の変化を図 2 に示した。D₂受容体は加齢につれ Bmax は次第に増加し 3 週齢で、Kd は次第に減少し 4 週齢でほぼ成熟ラットレベルに達した。つまり D₂受容体は週齢増加につれ結合部位増加、高親和性に変化した。

運動量を表す各指標の生理的発達過程 (図 3) を見ると、動作回数、移動時間、移動距離は 2 週齢より増加し 3 週齢以降はほぼ一定となった。立ち上がり回数は 3 週齢に最多となり以後漸減した。方向反転回数は 4 週齢まで一定であったが、以後急増した。体重は週齢に比例して増加した。

II. NE 減少群、CA 減少群および DA 減少群

脳内 CA の減少が運動量に及ぼす影響を検討するため NE 減少群、CA 減少群および DA 減少群の 3 群を作成した。

1. 脳内 CA、インドールアミンおよびその代謝産

物の含量の変化 (表 2)

NE 減少群では基底核および前大脳皮質での NE MHPG が, CA 減少群が全 CA が, DA 減少群では DA, DOPAC, HVA が有意に低下 ($p < 0.01$) していた. NE 減少群の基底核において DA, DOPAC, HVA も軽度減少 ($p < 0.05$) していたことを除くと, 基底核と前大脳皮質では目的の CA が選択的に各対照群の10~40%に減少していた.

その他の部位では NE 減少群の MHPG が海馬, 後大脳皮質で, CA 減少群の MHPG が視床下部, 橋+延髄, 中脳で, DA が中脳, 後大脳皮質で, DOPAC が視床下部, 中脳で, HVA が中脳で, DA 減少群の DA, DOPAC, HVA が視床下部, 視床, 小脳, 後大脳

皮質で DA が橋+延髄, 海馬でそれぞれ有意に低下 ($p < 0.01$) していた. NE 減少群での視床の NE, CA 減少群での小脳の MHPG は逆に増加 ($p < 0.01$) した. 5HT, 5HIAA は基底核で3群とも有意に増加していたが, 他の部位, 群間に一定の傾向は認められなかった.

2. 運動量の変化 (図 4)

DA 減少群は2, 3週齢に著明な多動を示し以後正常化した. つまり対照群に比し2週齢で動作回数, 移動時間, 立ち上がり回数は4倍, 移動距離は8倍, 方向反転回数は2倍と著増 ($p < 0.01$) し, 3週齢で動作回数, 移動時間, 立ち上がり回数は3倍と増加 ($p < 0.05$) した. 逆に CA 減少群, NE 減少群では2週齢

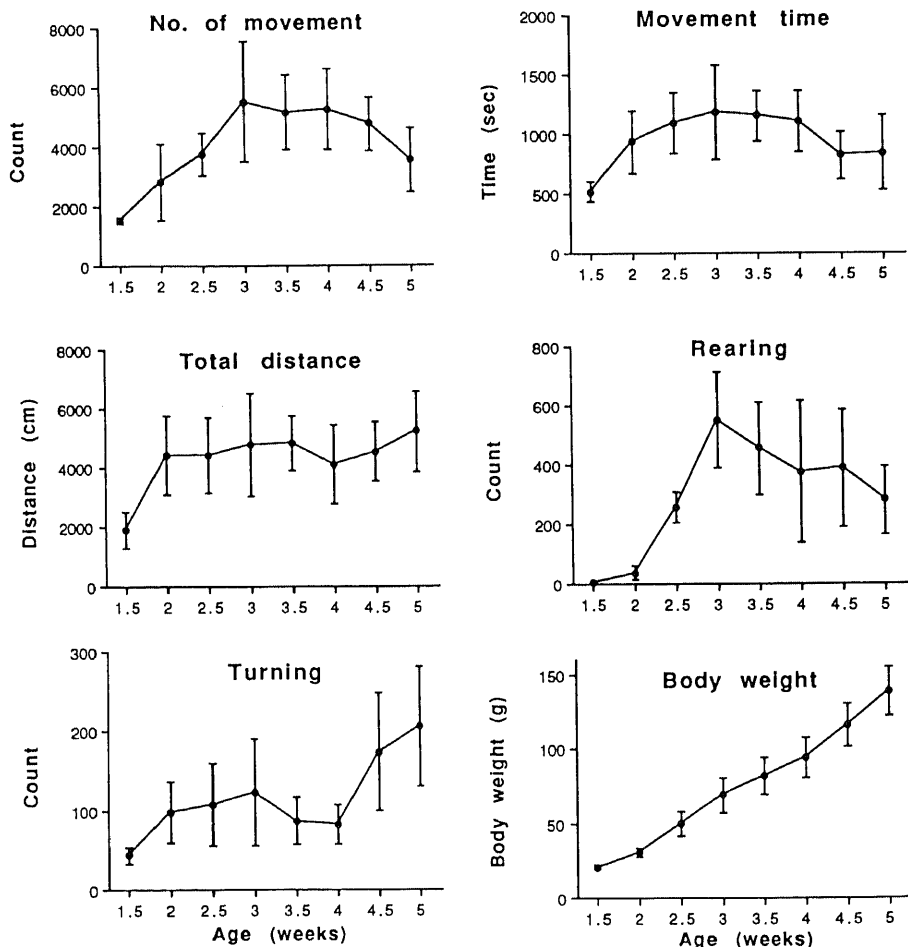


Fig. 3. Age-dependent changes of the locomotive activity in normal rats. Activity was measured by using ANIMATE-450® with doughnut-shaped cage in 2hr interval at light cycle. Vertical bar shows mean \pm SD. Numbers of rats used were 8.

の運動量はすべて30%以下に減少 ($p < 0.01$) し、それらは3週齢以降正常化した。CA減少群の5週齢で、動作回数、移動時間、移動距離は約2倍の増加 ($p < 0.01$) を示したが、DA減少群のような著明な多動は認めなかった。体重はCA減少群の減少 ($p < 0.05$) が最も著明で、NE減少群、DA減少群の減少は同程度であった。

3. 線条体 D_2 受容体の変化 (表 3)

Bmax は CA 減少群, DA 減少群で増加 ($p < 0.05$), Kd は DA 減少群で増加 ($p < 0.05$) し, CA, DA 減少両群とも線条体 D_2 受容体は結合部位増加, 低親和性に変化した。NE 減少群では Bmax も Kd も対照群とほぼ同じであった。

4. DOPS, L-DOPA 投与による急性効果

4週齢の対照群, 各処置群に NE の前駆物質である DOPS, DA と NE の前駆物質である L-DOPA を投与し, 運動量の変化を移動距離で測定した (図 5)。対照群ではいずれの投与でも有意な変化はなかった。L-DOPA 投与にて CA 減少群, DA 減少群では, 最初は狂暴に激しくはね回り約一時間後には一方への旋回運動を続けた。従って移動距離上は著増 ($p < 0.01$) を認めた。L-DOPA 投与による効果は CA 減少群より DA 減少群のほうが有意 ($p < 0.05$) に高かった。一方, DOPS 投与ではいずれの群でも鎮静化し運動量は減少する傾向を認めた。また, DA 減少群に DOPS を30分前に投与しておくと, L-DOPA による運動量の増

Table 2. Distributions of catecholamines, indoleamines and their metabolites of NE, CA and DA depleted group in the 9 different brain regions

	NE	MHPG	DA	DOPAC	HVA	5HT	5HIAA
Basal ganglia							
NE depleted	23±8**	37±4**	78±2*	69±4*	74±10*	159±14**	125±18*
CA depleted	11±1**	11±1**	34±6**	29±7**	35±8**	183±50**	144±29*
DA depleted	99±18	86±11	46±21**	41±14**	48±17**	123±12*	113±5
Frontal cortex							
NE depleted	17±2**	10±3**	88±14	98±11	81±22	103±8	121±16
CA depleted	15±2**	16±3**	25±5**	45±4**	30±10**	99±13	101±10
DA depleted	108±17	114±20	21±5**	28±6**	26±7**	89±9	88±5
Hypothalamus							
NE depleted	109±21	64±17*	88±10	90±12	104±14	81±46	94±18
CA depleted	114±8	51±12**	85±32	52±10**	69±27	ND	ND
DA depleted	95±14	96±14	70±3**	60±6**	56±4**	82±8	109±5
Thalamus							
NE depleted	171±26**	88±17	115±32	110±21	164±61	147±37*	119±28
CA depleted	106±18	107±52	76±50	69±23*	75±21	79±11	94±16
DA depleted	85±10*	86±12*	18±5**	32±4**	35±6**	108±3	121±20
Cerebellum							
NE depleted	106±18	173±28**	128±34	110±12	167±42	98±6	101±19
CA depleted	106±20	94±38	132±51	128±17	59±26*	68±17	ND
DA depleted	103±17	109±7	68±5**	57±8**	67±3**	66±10	73±6
Pons+medulla							
NE depleted	95±14	109±32	89±16	90±17	75±28	ND	89±15
CA depleted	87±20	72±10**	85±12	84±11	60±47	89±9	98±26
DA depleted	94±20	86±11	74±5**	83±10	91±11	75±25	87±17
Mesencephalon							
NE depleted	112±36	113±22	81±10	93±13	78±19	58±13**	74±10*
CA depleted	90±23	63±4**	63±5**	73±7**	41±2**	64±26	78±36
DA depleted	88±20	93±9	76±13*	73±9*	83±7	96±12	108±38
Hippocampus							
NE depleted	116±31	49±14**	141±30	113±10	117±30	196±89	103±28
CA depleted	93±39	39±36	53±41	73±15	44±24*	128±20	111±29
DA depleted	140±22	192±73	24±6**	63±22*	73±22	130±42	94±10
Occipital cortex							
NE depleted	96±7	26±13**	150±30	129±43	163±43	104±8	ND
CA depleted	112±41	69±41	28±13**	91±34	76±14*	100±13	109±16
DA depleted	112±41	107±11	15±7**	41±5**	60±5**	94±17	95±12

Values are expressed as % to control. Results (means±SD) are obtained from 5 rats at 6 weeks of age. *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$ (compared with each control by Student's t-test); ND, not detectable.

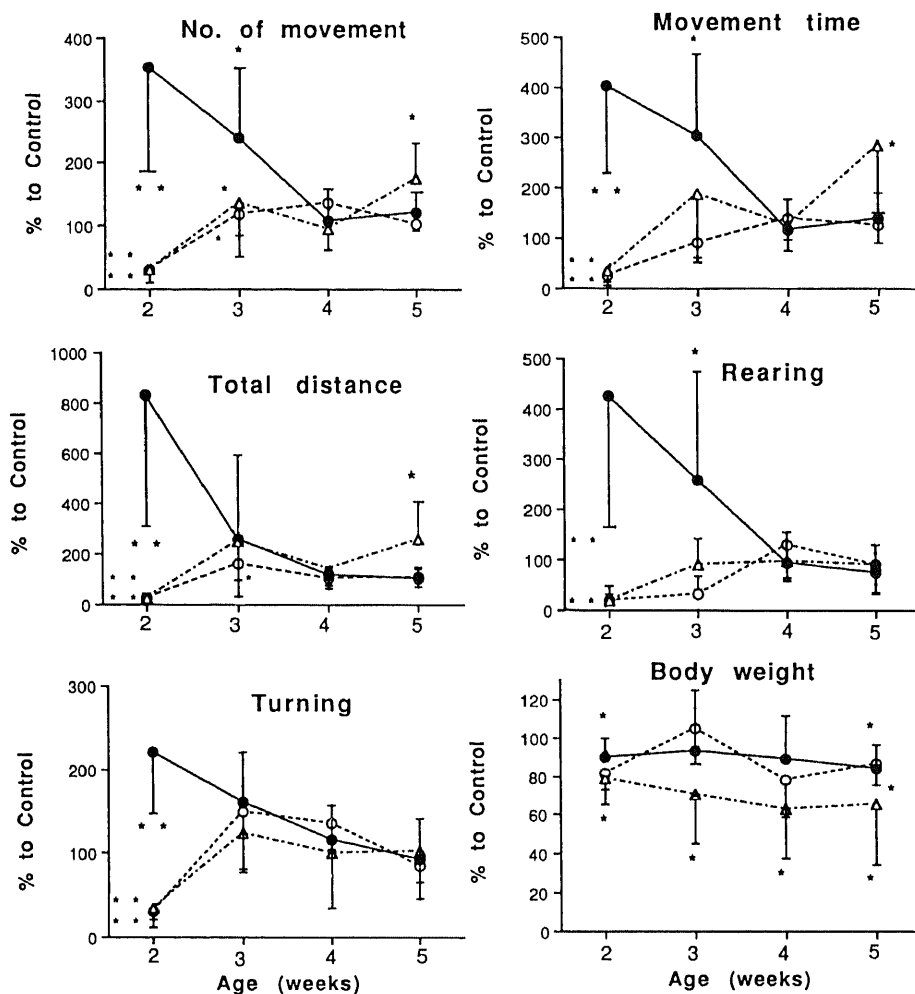


Fig. 4. Locomotive activity in NE, CA and DA depleted group at 2, 3, 4 and 5 weeks of age. Values are expressed as % to each control group. Vertical bar shows SD. Numbers of rats used were 7 or 8 in each group. *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$ (by Student's t-test). $\cdots\circ\cdots$, NE depleted group; $\cdots\triangle\cdots$, CA depleted group; $\text{---}\bullet\text{---}$, DA depleted group.

Table 3. Changes of Bmax and Kd of striatal D₂ receptors in NE, CA and DA depleted group

	Bmax (fmol/mg protein)	Kd (nM)
Control	635 ± 54	0.765 ± 0.098
NE depleted	645 ± 24	0.767 ± 0.356
CA depleted	907 ± 200*	1.377 ± 0.386
DA depleted	890 ± 35*	1.095 ± 0.168*

Scatchard analysis was used to determine Bmax and Kd. Results (mean ± SD) are obtained from 5 rats at 6 weeks of age in each group. *, $p < 0.05$ (by one way ANOVA followed by Scheffé's multiple comparison procedure).

加は明らかに抑制 ($p < 0.01$) された。

Ⅲ. DA 減少群における運動量, 脳内 CA 含量, 線条体 D_2 受容体および DA 受容体作動薬, 拮抗剤の効果

1. 24時間の運動量

DA 減少群が多動を呈する 3 週齢において 24 時間の運動量を測定した。総移動距離では対照群の $41,078 \pm 12,515$ cm に比べて DA 減少群では $109,449 \pm 31,567$ cm と有意 ($p < 0.01$) に多動であった。昼夜の比率においては対照群では夜間の総移動距離が一日の $67.9 \pm 3.5\%$ とその習性どおり夜行性のサーカディアンリズム (circadian rhythm, 日周リズム) がみられた。DA 減少群でも $73.6 \pm 7.0\%$ とサーカディアンリズムを保持していた。典型的な 1 例について, 図 6 に 30 分毎の移動距離の 24 時間測定記録を提示した。

2. 脳内 CA 含量およびその代謝産物と線条体 D_2 受容体の加齢に伴う変化

基底核および前大脳皮質において DA, DOPAC, HVA は 3 週齢で最低となりその後増加した (図 7)。

MHPG は 2, 3 週齢の基底核と 3 週齢の前大脳皮質で有意に低下したが, その後正常化し, 逆に NE は 2 週齢で両部位とも増加していた。5HT, 5HIAA は基底核で次第に増加する傾向を認め, 逆に前大脳皮質では 2 週齢のみ増加していた。

Bmax は 3 週齢から, Kd は 6 週齢から対照群に比し有意に増加した (図 8)。興味あることに, Kd は対照群では週齢増加とともに減少するのに対して, DA 減少群では逆に増加していった。

3. DA 受容体作動薬, 拮抗剤による急性効果

各 DA 受容体サブクラスの運動量に及ぼす影響を見るため D_2 受容体作動薬アモルフィン, D_1 受容体拮抗剤 SKF83566, D_2 受容体拮抗剤スピペロンおよび前シナプス DA 受容体作動薬 (-)3PPP をそれぞれ対照群, DA 減少群に投与し移動距離を測定した。4 週齢の DA 減少群では 0.1mg/kg のアモルフィン少量投与で対照群に比し著明に増加 ($p < 0.01$) し, この増加はスピペロン前処置により完全に抑制 ($p < 0.05$) された (図 9)。 1.0mg/kg の大量投与では両群とも著明に増加した。この結果は D_2 受容体の除神経性過敏を示していた。

SKF83566, スピペロン, (-)3PPP はいずれも対照群に運動量減少をもたらすが, 多動の時期にある 2 から 3 週齢の DA 減少群はスピペロンでは著明な運動量減少 ($p < 0.01$) を認めたが, SKF83566, (-)3PPP では有意な減少は認めなかった (図 10)。

考 察

手指などの巧緻運動は前大脳皮質の運動領野で部位別に支配され, その前の運動前野で目的に沿ったものに統合している。一方, 移動などの粗大運動は主に大脳基底核 (線条体, 淡蒼球, 黒質) で制御している²²⁾と考えられている。脳内神経伝達物質はこれらの運動の亢進, 抑制を司っており, 早い運動に興奮性に働くものとして, グルタミン酸, アスパラギン酸が, 抑制性のものでガンマアミノ酪酸が知られている。また, 遅い運動に関与するものとして DA, NE, 5HT, ムスカリン性アセチルコリン, 種々のペプチドが知られている²⁴⁾が, その詳細については明らかでない。

今回脳内 CA が運動に及ぼす役割を明らかにするため, まず正常ラットでの脳内 CA 系の成熟過程を検討した。モノアミン系神経は出生時には十分に発達しておらず生後に脳の尾側から吻側へとシナプス形成を増加させていく²⁵⁾と報告されている。今回の結果でも同様に脳内 CA 含量は NE が 6 週齢で, DA はそれより遅れて年齢依存性に成熟レベルに達した。また, 線条

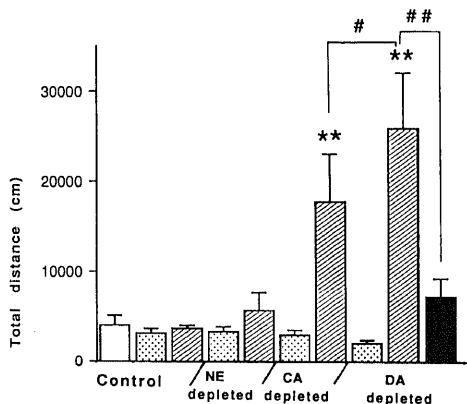


Fig. 5. Effect of DOPS and L-DOPA on locomotive activity in control, NE depleted, CA depleted and DA depleted rats at 4 weeks of age that were pretreated with pargyline. In DA depleted rats, effect of pretreatment of DOPS on L-DOPA-induced hyperactivity (■) was examined. Saline (□), DOPS (▨, 100mg/kg) and L-DOPA (▤, 100mg/kg) were injected intraperitoneally (i. p.) 30min before and pargyline (30mg/kg i. p.) was 60min before measurement of total distance (2hr). Vertical bar shows SD. Numbers of rats used were 5 in each group. **, $p < 0.01$ from saline injected control group; #, $p < 0.05$; ##, $p < 0.01$ from L-DOPA injected DA depleted group (by one way ANOVA followed by Scheffe's multiple comparison procedure).

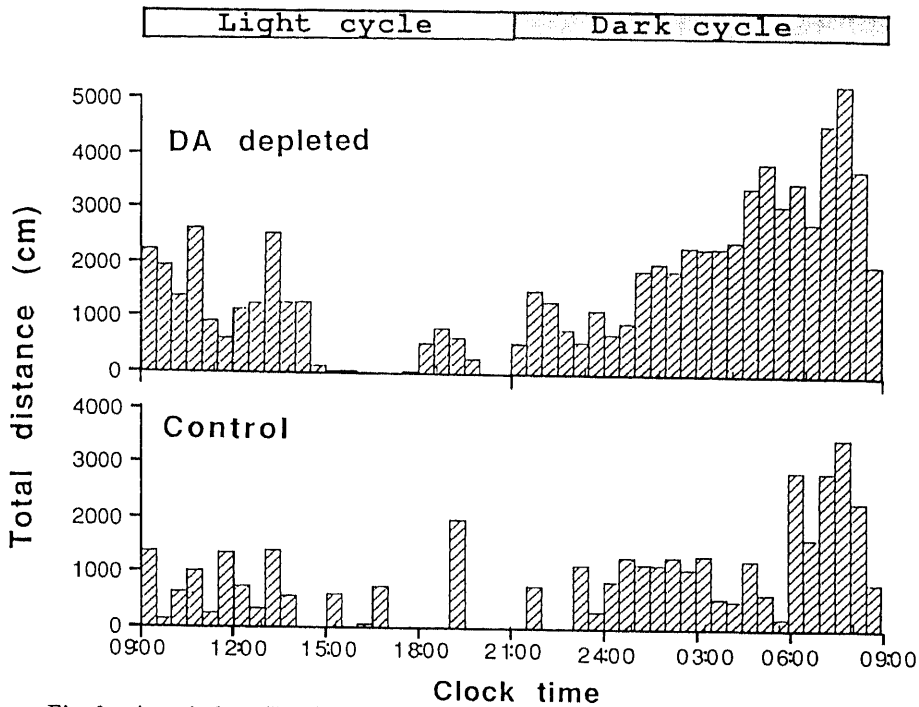


Fig. 6. A typical profile of 24hr locomotive activity in DA depleted and control rats at 3 weeks of age. One shaded column expresses total distance (cm) during 30min. Total distance of 24hr and dark cycle % of DA depleted group, and of control group are 89078cm and 73.5%, 34729cm and 67.2%, respectively.

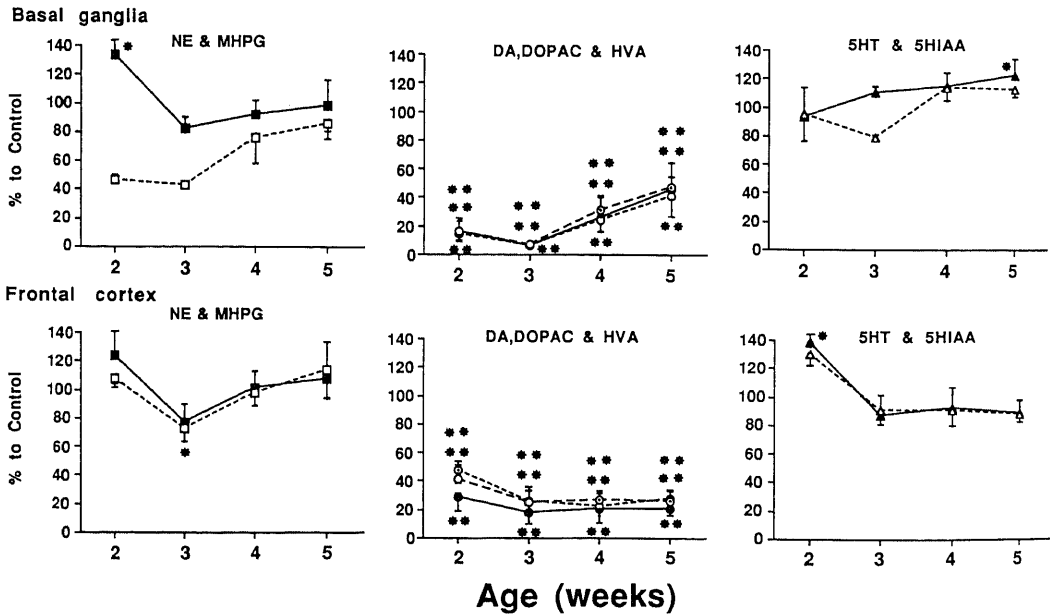


Fig. 7. Age-dependent changes of the contents of catecholamines, indoleamines and their metabolites in basal ganglia (upper panel) and frontal cortex (lower panel) in DA depleted rats. Values are expressed as % to each control group. Vertical bar shows mean \pm SD. Numbers of rats used were 6. *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$ (by Student's t-test). —■—, NE; ...□..., MHPG; —●—, DA; ...○..., DOPAC; ...⊙..., HVA; —▲—, 5HT; ...△..., 5HIAA.

体 D₂ 受容体は DA 含量の成熟より明らかに早く 2 から 3 週齢に急増し 4 週齢で成熟した。この過程は運動量の発達、特に動作回数、立ち上がり回数の変化に並行しており、移動などの粗大運動の成熟には CA 神経の軸索分岐、シナプス形成という量的な発達に比べて受容体の成熟という質的な発達がより関連していることを示唆する。

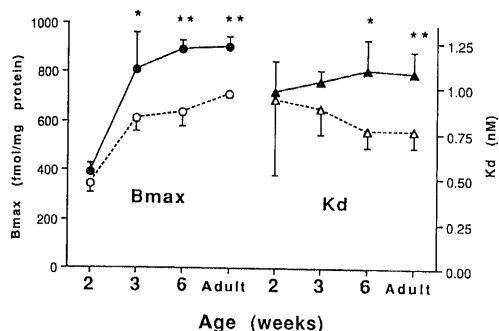


Fig. 8. Age-dependent changes of Bmax and Kd of D₂ receptors in DA depleted rats brain striatum. Vertical bar shows mean ± SD. Numbers of rats used were 5 in each group. *, p < 0.05; **, p < 0.01 (by Student's t-test). ...○..., Bmax of control; —●—, Bmax of DA depleted; ...△..., Kd of control; —▲—, Kd of DA depleted.

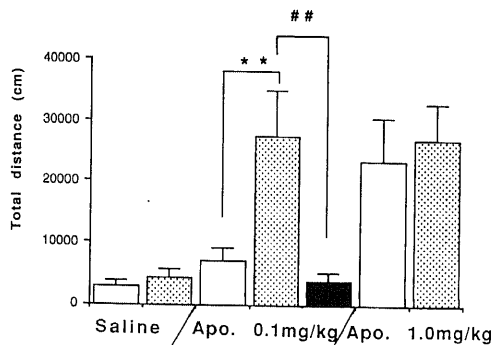


Fig. 9. Effect of apomorphine (Apo.) on locomotive activity in control (□) and DA depleted (▣) rats at 4 weeks of age. Effect of pretreatment of spiperone on Apo.-induced hyperactivity (■) was examined. Apo. (0.1mg/kg or 1.0mg/kg i.p.) was injected 5min before and spiperone (10mg/kg i.p.) was injected 30min before measurement of total distance (2hr). Vertical bar shows SD. Numbers of rats used were 5 in each group. **, p < 0.01 from each control group; ##, p < 0.01 between with and without spiperone pretreatment in Apo. injected DA depleted group (by one way ANOVA followed by Scheffe's multiple comparison procedure).

次に、NE、DA およびその両方の持続的選択的減少ラット 3 群を作成し運動量の変化を経時的に測定した。新生仔期の各 60HD 処置により基底核および前大脳皮質では目的の CA が対象群より 60~90% 減少した。DA 減少群では 2、3 週齢に著明な多動を来し以後は正常化した。一方、NE 減少群、CA 減少群は 2 週齢にはほとんど自発運動がなかったものの以後正常化し、5 週齢の CA 減少群でやや多動を認めた。この結果は DA 減少群で 15~22 日齢に多動を来すという Shaywitz らの報告¹⁰⁾²⁶⁾ に一致するものであった。また、基底核、前大脳皮質はそれぞれ DA、NE の主な投射路に当たる部位であり²⁷⁾、基底核および前大脳皮質における DA 神経の破壊と NE 神経の温存が多動に大きく関与していることが推察された。

線条体 D₂ 受容体は正常では加齢とともに結合部位増加、高親和性となる。新生仔期より持続的に DA 減少が続く CA 減少群、DA 減少群では結合部位は対照より有意に増加し²⁸⁾、D₂ 受容体作動薬アポモルフィン投与に過剰に反応することから DA 神経は除神経性過敏になることが示された。一方、経時的にみると DA 減少群の結合部位は正常と同様加齢に連れて増加したが親和性は逆に低下して行くことが判明した。

以上の結果から DA 減少群が多動となる主因は、基底核の持続的 DA 減少により除神経性過敏となった

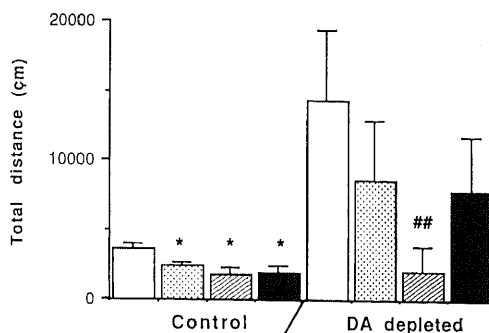


Fig. 10. Effect of D₂ antagonist SKF83566, D₂ antagonist spiperone and DA autoreceptor agonist (-)3PPP on locomotive activity in control and DA depleted rats from 2 to 3 weeks of age. Saline (□), SKF83566 (▣, 1.0mg/kg), spiperone (▤, 2.0mg/kg) and (-)3PPP (■, 1.0mg/kg) were injected subcutaneously 5min before measurement of total distance (2hr). Vertical bar shows SD. Numbers of rats used were 5 in each group. *, p < 0.05 from saline injected control group; ##, p < 0.05 from saline injected DA depleted group (by one way ANOVA followed by Scheffe's multiple comparison procedure).

D₂受容体が生理的刺激で分泌された微量な DA にも過剰に反応して、アポモルフィン投与時の巡回運動のごとく多動をきたすためと推測された。そして3週齢には DA 含量が最低となり D₂受容体への刺激が減少し、その後 DA 神経は再生、発芽する³⁹ものの、受容体の親和性が低下が進行するために4週齢には生理的な刺激範囲内では多動をきたさなくなると考えられる。この多動の加齢による変化はヒトの臨床症状との年齢的推移とも一致する³⁰。また、D₂受容体に同様に過敏性のある CA 減少群に多動が見られないのは、生理的条件下で多動を来すには DA 減少に加え NE 神経が温存されていることが必要であると思われた。また、D₂受容体に過敏性のない NE 減少群では当然多動とはならない。

次に、脳内 DA または NE の過剰時の運動について検討した。対照群に DA, NE の前駆物質 L-DOPA を大量投与すると、以前の報告^{31,32}とも一致して最初には狂暴に激しく動き跳ね回り、その後一定方向への持続的巡回や嗅いだり舐めたり噛んだりする常同行動が続く二相性の運動増加がみられた。DA に過敏状態である DA 減少群、CA 減少群では少量の L-DOPA 投与で同様の二相性運動増加が見られた。また、後半の巡回運動はアポモルフィン投与後に見られるものと同じ運動であり、これは急性の DA 単独の増加による作用と考えられた。Schoenfeld ら³³によると DA 減少群に L-DOPA を DA に変換する芳香族アミノ酸脱炭酸酵素の阻害剤を前投与すると、その著明な運動量増加は消失するが、DA を NE に変換するドーパミンβ水酸化酵素の阻害剤を投与しても運動量の増加は不変であった。このことは L-DOPA による運動量増加には NE よりも DA が関与していることを示している。DOPS は DA を経由せずに NE に変換される合成 NE 前駆物質で、脳内移行性も良好のため、末梢投与により中枢 NE を特異的に補充する³⁴ことができる。この DOPS 投与による急性の NE 単独の増加では L-DOPA とは逆に鎮静化、不活動、傾眠傾向をもたらす、運動量はやや抑制された。また、DA 減少群に DOPS 前処置すると L-DOPA による過敏反応は抑制された。以上より過剰な DA は運動に対して促進的に働き NE はそれを抑制していると考えられる。

D₂受容体に同程度に過敏性のある DA 減少群、CA 減少群に L-DOPA 投与すると NE 神経の温存された DA 減少群のほうがより運動量が増加した。また、Scheel ら³⁵によると L-DOPA 投与時の最初の狂暴な闘争的行動は DA と NE による相乗作用であるとされている。これらより生理量以上の NE の存在下で

DA を投与するとより増強された DA 作用が発現することが示唆され、DA 減少群の多動に NE 神経が温存されていることが必要であることの傍証といえる。

後シナプス DA 受容体はアデニル酸シクラーゼとの共役の仕方により D₁と D₂受容体に分類される³⁶。D₁受容体作動薬よりも D₂受容体作動薬が著明に運動量を増加させる³⁷ことや、D₂受容体作動薬の作用力は抗パーキンソン病効果に並行し、拮抗剤の親和性は抗精神病効果に並行する³⁸ことから D₂受容体のほうが生理、病態に深く関連しているとされている。また、DA 自己受容体は DA 神経終末(前シナプス)に存在して DA 放出と生合成を迅速に調節する高親和性の受容体で、その刺激により運動量の低下をもたらす³⁹。今回正常ラットに同程度の運動量低下を来す量の D₁、D₂受容体拮抗剤、自己受容体作動薬を多動期の DA 減少群に投与したところ、D₂受容体拮抗剤のみ著明な多動抑制を認めた。この結果は DA 減少群の多動は D₁受容体、自己受容体よりも D₂受容体によって制御されていることを示唆する。

Oades ら⁴⁰は 6OHD を前大脳皮質に注入し特異的に DA を低下させアポモルフィンを投与すると、中等度の運動増加認めることから、この部位の DA 減少も多動と関連するとしている。また、前大脳皮質 DA は基底核 DA 神経の活動性を抑制しているという報告⁴¹⁻⁴³もあり、DA 減少群の多動の原因として D₂受容体の過敏性だけでなく、前大脳皮質による運動抑制作用の減少も関連しているかもしれない。また、移動などの粗大運動は中脳辺縁系前脳部(側座核と A10系)の、舐める噛むなどの常同行動は黒質線条体(尾条核と A9系)の DA 放出による⁴⁴とされている。今後脳内各部位における NE, DA の運動に対する協調、拮抗作用を検討して行く必要が認められた。

また、今回の DA 減少群の多動はサーカディアンリズムを保持していた。ラットの生物時計は視交叉上核に存在し⁴⁵、CA は神経伝達物質として生物時計と睡眠覚醒機構を結んでいる。特に NE 神経は視索前野の睡眠中枢を抑制し覚醒をもたらしている⁴⁶とされている。脳内 DA 減少、NE 正常状態では睡眠覚醒機構に影響を及ぼさないものと思われた。

今回 CA 系に加えて、5HT と 5HIAA のインドールアミンの変化も検討した。運動を制御する基底核で有意に増加、学習と記憶に関連する海馬でも増加傾向にあった⁴⁷。成熟ラットに 6OHD を処置した場合は認められないため、新生仔では目的に欠落した機能を補うため過剰に再生発芽したと考えれば興味深い。各処置群において同様の傾向を認めるためインドールア

ミンの増加が多動の主因であるとは考えられなかった。

以上の結果より新生仔期から発達期の脳内 DA 減少は多動をもたらすことが明らかとなったが、一方成熟期以降に脳内 DA を減少させても運動量は変わらない⁴⁸⁾。逆に、6OHD の片側線条体注入ラットが運動量が減少する疾患であるパーキンソン病の実験モデルとなっている⁴⁹⁾。このように DA 神経が破壊される時期によって違う行動様式を提示することは興味ある知見である。脳内 DA のみならず神経伝達物質の生理的役割は年齢依存性に異なり、同一病因でも発症時期により異なる病像を取ることを示唆するのかもしれない。

結 論

1. 線条体 D₂受容体は加齢にともない著明な結合能の増加、親和性の増大を示し、その成熟にはおよそ生後4週を要した。その過程において運動量の生理的増加と並行関係がみられた。

2. 6OHD 投与により新生仔期から持続的選択的に脳内 DA が減少すると2, 3週齢に多動をきたしたが加齢とともに正常化した。

3. その多動の主因は線条体 D₂受容体の除神経性過敏によると推定され、D₁受容体および自己受容体の関与は少なかった。

4. 多動の発症には NE 神経が温存されていることが必要であり、さらに前大脳皮質 DA の基底核 DA 運動制御系に対する抑制作用の減少も関与すると推定された。

5. 脳内 DA の過剰は旋回や常同運動を、NE の過剰は逆に鎮静化をもたらし、脳内 DA 系の刺激により促進された運動は過剰な NE で抑制された。

以上の結果より移動運動の成熟には脳内 DA、特に線条体 D₂受容体の成熟が重要であり、新生仔期からの持続的脳内 DA の減少は D₂受容体の除神経性過敏をもたらし発達期に多動となった。基底核の DA 運動制御系には NE 神経、前大脳皮質 DA 神経も関与していることが示唆された。

謝 辞

稿を終えるに望み、御指導と御校閲を賜りました恩師谷口昂教授に深く感謝の意を表します。また、終始直接の御指導と御助言を頂きました佐藤保助教授を始め、研究に御協力頂きました小児科内分秘グループ並びに教室員の諸先生方に心より感謝いたします。

なお本稿の要旨は第64回日本内分秘学会学術総会(於東京, 1991)において発表した。

文 献

- 1) Vogt, M.: The concentration of sympathin in different parts of the central nervous system under normal conditions and after the administration of drugs. *J. Physiol.*, **123**, 451-481 (1954).
- 2) Carlsson, A. Lindqvist, M., Magnusson, T. & Waldeck, B.: On the presence of 3-hydroxytryptamine in brain. *Science*, **127**, 471-472 (1958).
- 3) McIlwain, H. & Bachelard, H. S.: Amines associated with neurotransmission. *In* H. McIlwain & H. S. Bachelard (eds.), *Biochemistry and the Central Nervous System*, 5th ed., p441-482, Charchill Livingstone, London, 1985.
- 4) Ehringer, H. & Hornykiewicz, O.: Verteilung von Noradrenalin und Dopamin (3-Hydroxytyramine) im Gehirn des Menschen und ihre Verhalten bei Erkrankungen des extrapyramidalen Systems. *Klin. Wochenschr.*, **38**, 1236-1239 (1960).
- 5) Cotzias, G. C., Paparasiliar, P. S. & Gellene, R.: Modification of parkinsonism: chronic treatment with L-Dopa. *N. Engl. J. Med.*, **276**, 337-340 (1969).
- 6) Ashcroft, G. W., Crawford, T. B. B., Eccleston, D. E., Sharman, D. F., MacDougall, E. J., Stanton, J. B. & Binns, J. K.: 5-hydroxyindole compounds in the cerebrospinal fluid of patients with psychiatric or neurological disease. *Lancet*, **2**, 1049-1052 (1966).
- 7) Crow, J. T. & Baker, H. F.: Monoamine mechanism in chronic shizophrenia: post-mortem neurological findings. *Br. J. Psychiatry*, **134**, 249-255 (1979).
- 8) Gottfries, C. G., Gottfries, I. & Roos, B. E.: Disturbance of monoamine metabolism in the brains from patients with dementia senilis and M6 Alzheimer. *Excerpta Med. Int. Cong. Ser.*, **180**, 310-321 (1968).
- 9) Nakasimhachari, N. & Himmich, H. E.: Biochemical studies in early infantile autism. *Biol. Psychiatry*, **10**, 425-430 (1975).
- 10) Shaywitz, B. A., Yaeger, R. D. & Klopfer, J. H.: Selective brain dopamine depletion in developing rats: An experimental model of minimal brain dysfunction. *Science*, **191**, 305-308 (1976).
- 11) Papas, B. A., Gallivan, J. V., Dugas, T.,

- Saari, M. & Ings, R.: Interventricular 6-hydroxydopamine in the newborn rat and locomotor response to dugs infancy: No support for the dopamine depletion model of minimal brain dysfunction. *Phychopharmacolgy*, **70**, 41-46 (1980).
- 12) Thieme, R. E., Dijkstra, H. & Stoof, J. C.: An evaluation of the young dopamine-lesioned rat as animal model for minimal brain dysfunction (MBD). *Phychopharmacolgy*, **67**, 165-169 (1980).
- 13) Eastgate, S. M., Wright, J. J. & Werry, J. S.: Behavioural effects of methylphenidate in 6-hydroxydopamine-treated neonatal rats. *Psychopharmacolgy*, **58**, 157-159 (1978).
- 14) Kato, T., Karai, N., Katsuyama, M., Nakamura, M. & Katsube, J.: Study on the activity of L-threo-3,4-dihydroxyphenylserine (L-DOPS) as catecholamine precursor in the brain. *Biochem. Pharmacol.*, **36**, 3051-3057 (1987).
- 15) Waddigton, J. L.: Behavioral correlates the action of selective D₁ dopamine receptor antagonist: impact of SCH23390 and SKF83566, and functionally-interactive D₁: D₂ receptor system. *Biochem. Pharmacol.*, **35**, 3661-3667 (1986).
- 16) Hedner, T. & Lundborg, P.: Development of dopamine autoreceptors in the postnatal rat brain. *J. Neural Transm.*, **62**, 53-63 (1985).
- 17) Kurata, K., Kurachi, M. Hasegawa, M., Kido, H. & Yamaguchi, N.: A stimulataneous analytical method for catecholamines, indleamines, and related compounds un 11 rat brain regions. *Jpn. J. Psychiatry Neurol.*, **41**, 291-300 (1987).
- 18) Gispen, W. H., Schotman, P. & Kloet, E. R.: Brain RNA and hypophysectomy: A topographical study. *Neuroendocrinology*, **9**, 285-296 (1972).
- 19) List, S. J. & Seeman, P.: Resolution of dopamine and serotonin receptor components of [³H] spiperone binding to rat brain regions. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, **78**, 2620-2624 (1981).
- 20) Luedtke, R. R. & Molinoff, P. B.: Characterization of binding sites for [³H] spiperidol. *Biochem. Pharmacol.*, **36**, 3255-3264 (1987).
- 21) Lowry, O. H., Rousenbrough, N. J., Farr, A. L. & Randall, R. J.: Protein measurement with Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 256-267 (1961).
- 22) Scatchard, G.: The attractions of proteins for small molecules and ions. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **51**, 660-627 (1949).
- 23) 彦坂興秀: 大脳基底核. *神経科学レビュー*, **1**, 36-85 (1987).
- 24) 吉田充男: 大脳基底核の運動機能を探る; ガンマアミノ酪酸の受容体と運動機能. *脳のレセプターと運動* (永津俊治, 吉田充男, 金澤一郎, 小川紀雄編), 第1版, 63-96頁, 平凡社. 東京, 1990.
- 25) Brees, G. R. & Traylor, T. D.: Developmental characteristics of brain catecholamines and tyrosine hydroxylase in the rat: effect of 6-hydroxydopamine. *Brit. J. Pharmacol.*, **44**, 210-222 (1972).
- 26) Shaywitz, B. A., Teicher, M. H., Cohen, D. J., Anderson, G. M., Young, J. G. & Levitt, P.: Dopaminergic but not noradrenergic mediation of hyperactivity and performance deficits in the developing rat pup. *Psychopharmacolgy.*, **82**, 73-77 (1984).
- 27) 永津郁子, 吉田眞美, 唐沢延幸: カテコールアミンニューロン. *神経精神薬理*, **7**, 191-207 (1985).
- 28) Suga, M.: Effect of long-term L-DOPA administration on the dopaminergic and cholinergic (muscarinic) receptors of striatum in 6-hydroxydopamine lesioned rats. *Life Sci.*, **27**, 877-882 (1980).
- 29) Stachowiak, M. K., Bruno, J. P., Snyder, A. M., Stricker, E. M. & Zigmond, M. J.: Apparent sprouting of striatal serotonergic terminals after dopamine-depleting brain lesions in neonatal rats. *Brain. Res.* **291**, 164-167 (1984).
- 30) Zametkin, A. J. & Rapoport, J. L.: Neurobiology of attention deficit disorder with hyperactivity: where have we come in 50 years? *J. Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatry*, **26**, 676-686 (1987).
- 31) Kruger, J. S. & Randrup A.: Stereotype hyperactive behaviour produced by dopamine in the absence of noradrenaline. *Life Sci.*, **6**, 1389-1398 (1967).
- 32) Hollister, A. S., Breese, G. R. & Mueller, R. A.: Role of monoamine neural systems in L-dihydroxyphenylalanine-stimulated activity. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **208**, 37-43 (1979).
- 33) Schoenfeld, R. I. & Uretsky, N. J.: Enhancement by 6-hydroxydopamine of the effect of dopa upon the motor activity of rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **186**, 616-624 (1973).
- 34) Kato, T., Karai, N., Katsuyama, M.,

- Nakamura, M. & Katsube, J.: Studies on the central action of L-threo-3,4-dihydroxyphenylserine (L-threo-DOPS) in FLA-63-treated mice. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **26**, 407-411 (1987).
- 35) Scheel, J. & Randrup, A.: Stereotype hyperactive behavior produced by dopamine in the absence of noradrenaline. *Life Sci.*, **6**, 1389-1398 (1967).
- 36) Waddington, J. L., Murray, A. M. & O'Boyle, K. M.: New selective D₁ and D₂ receptor agonists as further probes for behavioural interactions between D₁ and D₂ systems. In P. M. Beart, G. N. Woodruff & D. M. Jackson (eds.), *Pharmacology and Functional Regulation of Dopaminergic Neurons*, 1st ed., pp117-123, MacMillan Press, London, 1988.
- 37) Stoff, J. C. & Tilders, F. J. H.: Dopamine receptors in the central nervous system. In E. Fluckiger, E. E. Müller & M. O. Thormer (eds.), *The Role of Brain Dopamine*, 1st ed., pp31-45, Springer-Verlag, Berlin, 1989.
- 38) Seeman, P.: Brain dopamine receptors. *Pharmacol. Rev.*, **32**, 229-252 (1981).
- 39) Arnt, J.: Differential behavioural effect of dopamine agonists in developing rats: a study of 3-PPP enantiomers. *Eur. J. Pharmacol.*, **91**, 273-278 (1983).
- 40) Oades, R. D., Taghzouti, K., Rivet, J. M., Simon, H. & Moal, M.: Locomotor activity in relation to dopamine and noradrenaline in the nucleus accumbens, septal and frontal areas; a 6-hydroxydopamine study. *Neuropsychobiology*, **16**, 37-42 (1986).
- 41) Antelman, S. M. & Caggiula, A. R.: Norepinephrine-dopamine interactions and behavior. *Science*, **195**, 646-653 (1977).
- 42) Tassin, J., Stinus, L., Simon, H., Blanc, G., Thierry, A., Moal, M., Cardo, B., & Growinski, J.: Relationship between the locomotor hyperactivity induced by A10 lesions and the destruction of the frontocortical dopaminergic innervation in the rat. *Brain. Res.* **141**, 267-281 (1978).
- 43) Carter, C. J. & Pycock, C. J.: Behavioural and biochemical effects of dopamine and noradrenaline depletion within the medial prefrontal cortex of the rat. *Brain. Res.*, **192**, 163-176 (1980).
- 44) Kelly, P. H., Seviour, P. W. & Iversen, S. D.: Amphetamine and apomorphine response in the rat, to 6OHDA lesions of nucleus accumbens septi and corpus striatum. *Brain Res.*, **94**, 507-522 (1975).
- 45) Uhl, G. R. & Reppert, S. M.: Suprachiasmatic nucleus vasopressin messenger RNA: circadian variation in normal and Brattleboro rats. *Science*, **232**, 390-392 (1986).
- 46) 香山雪彦: 上行性網様体賦活系の再評価—ノルアドレナリン系とアセチルコリン系の働き. *神経進歩*, **30**, 314-327 (1986).
- 47) 野村正彦: セロトニンと学習. *蛋白質核酸酵素*, **26**, 1735-1740 (1981).
- 48) Breese, G. R., Baumeister, A. A., McCrown, T. J., Emerick, S. G., Frye, G. D., Crotty, K. C. & Mueller, R. A.: Behavioural difference between neonatal and adult 6-hydroxydopamine-treated rats to dopamine agonists: relevance to neurological symptoms in clinical syndromes with reduced brain dopamine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **231**, 343-354 (1984).
- 49) Ungerstedt, U. & Arbuthnoff, G. W.: Quantitative recording of rotational behavior in rats after 6-hydroxydopamine lesions of the nigrostriatal dopamine system. *Brain. Res.*, **24**, 485-493 (1970).

Changes in Brain Catecholamines as the Causative Factor of Hyperactivity: An Examination in Developing Rats Satoshi Minami, Department of Pediatrics, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Juzen Med Soc., **100**, 678—692 (1991)

Key words dopamine, norepinephrine, brain neurotransmitter, dopamine receptor, hyperactivity

Abstract

The cause of hyperactivity in childhood has not yet been fully understood. This study was designed to elucidate whether the depletion of brain catecholamines (CA), norepinephrine (NE) or dopamine (DA) induced locomotor hyperactivity in developing rats on the basis of maturational changes in brain CAs. The NE contents in the frontal cortex and basal ganglia increased age-dependently and attained adult levels by 6 weeks of age, while the DA contents were delayed. In contrast, [³H] spiperone binding to striatal D₂ receptors rapidly increased in capacity as well as in affinity and attained adult levels by 4 weeks of age. A Physiological increase in locomotor activity paralleled the maturational change in D₂ receptors. Brain DA neurons were selectively destroyed by the intracisternal injection of 6-hydroxydopamine (6OHD) after desipramine pretreatment in 5-day-old rats. The DA contents in the basal ganglia and frontal cortex were reduced by 60 to 90% of controls. The DA-depleted rats also showed a high-capacity but low-affinity [³H] spiperone binding to striatal D₂ receptors. These rats displayed a 3-6 fold increase in locomotor activity around 2-3 weeks of age. The administration of D₂ receptor agonist, apomorphine resulted in a dramatic increase in locomotor activity and D₂ receptor antagonist inhibited the hyperactivity, whereas D₁ antagonist or autoreceptor agonist did not. L-3,4-dehydroxyphenylalanine (L-DOPA), precursor of DA and NE, induced rotational and stereotyped activity but L-threo-3, 4-dehydroxyphenylserine (DOPS), precursor of NE, produced sedation. The L-DOPA-induced hyperactivity was inhibited by the pretreatment of DOPS. These results indicate that DA neurons in the basal ganglia facilitate locomotor activity in normal rats and denervation supersensitivity of striatal D₂ receptors induces hyperactivity in DA-depleted rats during the 2-3 week developmental period.