

マウスにおける methamphetamine および morphine の垂直および水平運動に及ぼす効果

伊藤 忠信 村井 繁夫 陳 慶勲
 大久保 昇 会田 則夫* 児玉 厚三**
 中野 錦吾*** 金沢 治樹****

岩手医科大学歯学部歯科薬理学講座 (主任: 伊藤忠信教授)

岩手医科大学歯学部口腔解剖学第一講座* (主任: 野坂洋一郎教授)

岩手医科大学歯学部歯科補綴学第一講座** (主任: 田中久敏教授)

岩手医科大学歯学部歯科矯正学講座*** (主任: 石川富士郎教授)

岩手医科大学歯学部口腔外科学第一講座**** (主任: 藤岡幸雄教授)

[受付: 1985年10月1日]

抄録: ddY 系雄性マウスにおける垂直運動量 (VMA) と水平運動量 (HMA) に及ぼす methamphetamine および morphine の効果が, 教室の伊藤らが開発した装置を用いて検討された。運動量の測定は薬物投与後10分ごとに180分間にわたって行われた。

1. Methamphetamine の場合: VMA および HMA は0.1mg/kg, s.c. では軽度減少を, 1 mg/kg, s.c. では増大を示した。また, 10mg/kg, s.c. では両者とも著明に増大したが, 1 mg/kg, s.c. で観察された変化と質的に異なる二相性の活性変化を示した。

2. Morphine の場合: VMA は用量に相関なく減少した。HMA は小量 (2 mg/kg, s.c.) では減少を, 大量 (10mg/kg, s.c. 以上) では用量依存的に増大を示した。

以上のことから, methamphetamine および morphine はマウスの VMA と HMA に対して用量に依存して異った影響を及ぼすことが示された。

Key words: vertical motor activity, horizontal motor activity, methamphetamine, morphine, mouse

マウスやラットなどの小動物の自発運動は, 外界から特別な刺激を受けていないときに観察される無条件行動であって, 中枢神経系の抑制あるいは興奮を反映して変化すると考えられている¹⁾。それ故, これら動物の自発運動に及ぼす薬物の効果を明らかにすることは, 行動薬理学上一つの基本的な情報を知る上で重要なことである。特に中枢神経作用薬の研究の場合, 自発運動の検討は脳の生化学的並びに電気生理学的研究とともに極めて重要な部分を担っている。

自発運動量 (spontaneous motor activity :

SMA) の測定装置としては, 従来より種々のものが考案され^{2,3)}, それぞれの目的に応じて利用されてきている。しかし, それら装置の条件としては安価で, 操作が簡単で, 確かな指標によって確実に SMA が定量化できるものであることが望まれる。しかも, 多数例の動物の SMA が個体ごとに同時収集できる能力をもっていることが実験遂行上必要である。しかしながら, 上記の条件を十分に満足させる装置については, まだ報告がない。

最近, 教室の伊藤ら²⁻⁶⁾はマウスの SMA を垂

Effects of methamphetamine and morphine on the vertical and horizontal motor activity in mice
 Tadanobu ITOH, Shigeo MURAI, Ching-Hsun CHEN, Noboru OKUBO, Norio AITA*, Kozo KODAMA**,
 Kingo NAKANO*** and Haruki KANAZAWA****

(Departments of Pharmacology, Oral Anatomy I*, Prothodontics Dentistry I**, Orthodontics Dentistry***, and Oral and Maxillofacial Surgery I****, School of Dentistry, Iwate medical university, Morioka 020)

岩手県盛岡市中央通 1-3-27 (〒020)

Dent. J. Iwate Med. Univ. 10: 195-201, 1985

直運動量 (vertical motor activity: VMA) と水平運動量 (horizontal motor activity: HMA) とに分けて同時測定することができる赤外線を応用した装置を開発した。本装置の特長は、従来の SMA 測定値と比較して極めて安価で、しかも多数例のマウスの SMA を VMA と HMA に分けて定量化でき、同時測定できることである。マウスの SMA に及ぼす methamphetamine⁷⁻¹⁵⁾ および morphine^{16-18,20,21)} の影響についてはすでにいくつかの報告があるが、運動量の成分を VMA と HMA に区別して分析した報告はない。

そこで、今回は本装置を用いて、マウスの SMA に及ぼす methamphetamine と morphine の効果を VMA と HMA とに分けて比較検討した。

実験材料並びに方法

1. 装置の概要

本装置の詳細についてはすでに報告²⁻⁶⁾してあるが、以下、その概要について述べる。測定原理はマウスが赤外線を遮った回数を計数化するもので、装置は検出器と計数器とからなっている。

1) 検出器: 構成は黒色不透明の厚さ 5 mm のアクリル樹脂板からなる 130(W)×300(H)×260(D) mm の箱, 160(W)×20(H)×290(D) mm の受皿および空気孔と採水孔とをもった 130(W)×5(H)×260(D) mm の蓋の 3 部分からなっている。VMA の検知は箱の奥行面に底面から 65 mm の高さの所に 30 mm 間隔で装着した 9 組の赤外線フォトカプラーで、また HMA の検知は上記と同じ奥行面の底辺の中央から 18 mm の高さの所に装着した 1 組の赤外線フォトカプラーで行う。赤外線フォトカプラーは発光素子と受光素子とからなり、発光部の駆動電圧および駆動電流は種々の予備の実験から 200 mV および 20 mA とし、受光部にはフォトトランジスターを用いた。光増幅には Ic 電圧比較器を用い、その感度はセンサーアンプにより個々の出力に合わせて調節してある。検出器 1

台でマウス 1 匹の VMA と HMA が測定できるが、本研究では検出器 10 台を作製して実験を行った。

2) 計数器: 本装置は検出器から出力する VMA と HMA の計数をデジタル表示するもので、本器 1 台で 5 台の検出器からの計数が表示できる。なお、本装置では C-Mosic を使用し、計数部の消費電流を 25 mA/桁、電流電圧を +4 ~ +7 V とした。

2. 実験方法

実験には ddY 系雄性マウス (体重 24-28 g) 70 匹を 1 群 10 匹づつ 7 群に分けて用いた。なお、VMA および HMA の測定に対して、マウスの挙尾がそれらの検知に影響を与えることから、実験には測定 7 日前にエーテル麻酔下で尾を根部から約 10 mm の所で切断したマウスを用いた。

被検薬は覚醒剤である methamphetamine と麻薬である morphine で、それらの投与量は前者では 0.1, 1 および 10 mg/kg, 後者では 2, 10 および 50 mg/kg であった。なお、これらは体重 10 g 当り 0.1 ml の割合になるように生理食塩水で調整された。対照群には生理食塩水を等量投与した。

実験はマウスの自発運動における概日性リズムを考慮して、室温 23-26°C, 湿度 50-65% の部屋で 9:00-13:00 の間に行った。VMA および HMA の測定はマウスを 10 分間検出器内に置いて環境に慣らしたのち、薬物を皮下投与し、投与直後より 10 分間ごとに 180 分間にわたって行った。なお、統計的処理は Student's t-test にて行った。

実験結果

1. 生理食塩水の VMA および HMA に及ぼす効果 (対照群)

Fig. 1 に示すように、投与後 10 分における VMA は 69.6 ± 6.9 (平均値 ± 標準誤差, 以下同じ), HMA は 44.9 ± 9.9 を示し、その後は両者とも漸次減少した。なお、投与後 50 分以降ではマウスの自発運動は観察されず、VMA および

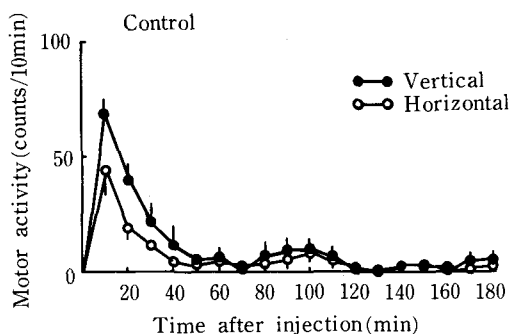


Fig. 1 Time curves for vertical and horizontal motor activities in saline treated mice. Vertical bars represent S.E. of mean obtained from 10 mice.

HMA はほとんど検知されなかった。

2. methamphetamine の VMA および HMA に及ぼす効果 (Fig. 2)

1) 0.1mg/kg 投与群

投与後10分におけるVMA (50.8 ± 11.3) および HMA (35.4 ± 8.1) は対照群よりも低い運動活性を示した。なお両者は30分までは10分値と大体同程度の活性を維持したが、その後両者の活性は漸次低下し、60分以降では対照群と同程度の活性を示した。

2) 1 mg/kg 投与群

VMA は投与後10分で対照群より有意に低い値 (31.1 ± 19.7) を示したが、その後徐々に増大し、40分後では対照群より有意に高い値 (78.6 ± 23.9) を示した。なお、その後70分までは40分値と大体同程度の運動活性を維持したが、以後漸次減少し、170分以降では対照群と同程度の活性を示した。

一方、HMA は投与後10分で対照群と大体同程度の値 (48.7 ± 11.5) を示した。この運動活性はその後70分まで維持されたものの、漸次減少し、130分以降では対照群と同程度の活性を示した。

3) 10mg/kg 投与群

VMA は投与後10分で対照群と大体同程度の値 (69.4 ± 19.7) を示し、その後80分までは10分値と大体同程度の運動活性を維持した。その後は漸次増大し、100分後では 178.8 ± 55.9 、130分後では 205.2 ± 36.9 を示した。それ以後は漸次低下したが、180分後でもなお、対照群より高い値 (68.6 ± 18.9) を示した。

一方、HMA は投与後10分で 224.9 ± 11.4 と著明な増大を示したが、その後急速に低下し、60分後では対照群と同程度の値 (9.2 ± 3.8) を示した。しかし、その後再び運動活性は増大し、

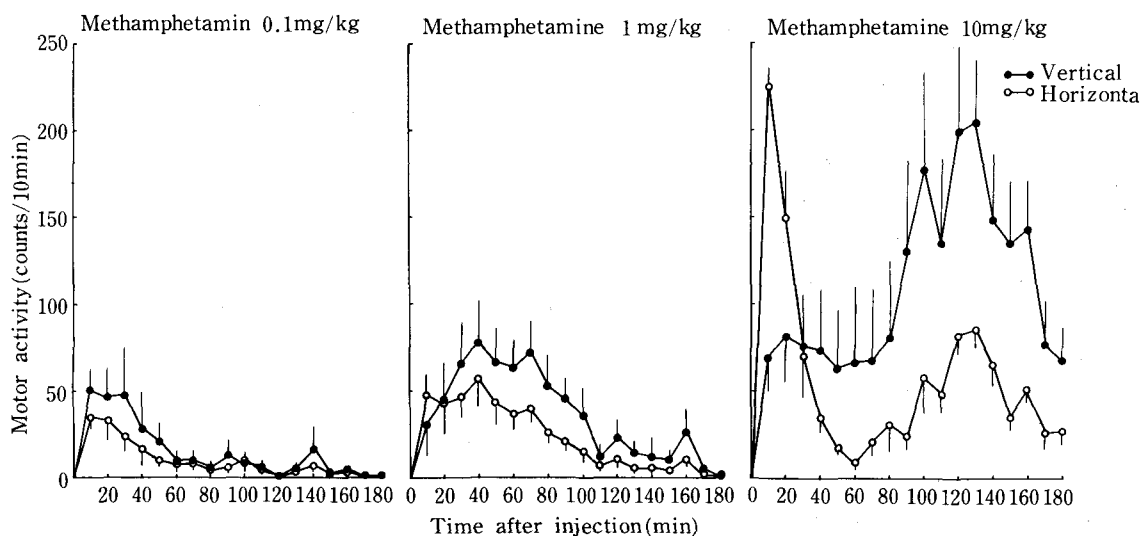


Fig. 2 Time curves for vertical and horizontal motor activities in methamphetamine treated mice. Vertical bars represent S.E. of mean obtained from 10 mice.

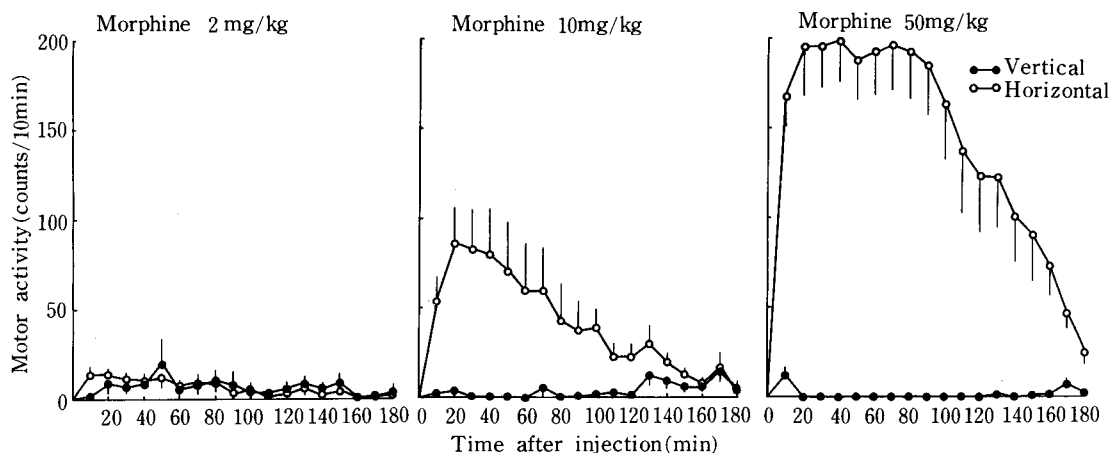


Fig. 3 Time curves for vertical and horizontal motor activities in morphine treated mice.

Vertical bars represent S.E. of mean obtained from 10 mice.

100分後では 58.7 ± 20.1 , 130分後では 86.0 ± 9.5 を示した。その後運動活性は漸次減少したが, 180分後でもなお, 対照群よりも高い値(27.8 ± 7.9)を示した。

3. morphine の VMA および HMA に及ぼす効果 (Fig. 3)

1) 2 mg/kg 投与群

VMA および HMA は 180 分にわたっていずれも対照群のそれらよりも有意に低い活性を示した。

2) 10 mg/kg 投与群

VMA は 2 mg/kg 投与群の場合よりもさらに低下し, 運動活性は測定されなかった。

一方, HMA は投与後 10 分で対照群と大体同程度の値 (52.2 ± 14.2) を示したが, その後は漸次低下したものの, 60 分後では 60.0 ± 25.7 , 120 分後では 23.3 ± 7.6 と対照群よりもなお高い値を示した。160 分以降では対照群と同程度の活性を示した。

3) 50 mg/kg 投与群

VMA は 10 mg/kg 投与群の場合と同様に著しく低下し, 運動活性は測定されなかった。

一方, HMA は投与後 10 分で 168.2 ± 16.4 , 20 分後では 192.3 ± 20.4 と著明に増大した。この増大の程度はその後 100 分まで維持された。それ以降では漸次低下したが, 180 分後でも 25.3 ± 6.3 と対照群よりもなお高い値を示した。

考 察

マウスやラットなどの小動物にみられる無条件行動には中枢神経系の活動が投影されていることから¹⁾, その機能に異常がある場合には精神活動に何らかの影響を及ぼし, 異常行動を引き起こすものと考えられている。さらに, 動物にもヒトと共通する精神活動の基本的なものが存在するかもしれないことが示唆されている¹⁾。従って, 精神活動と行動とは密接な関係にあることから, 中枢神経系の機能の解析の一つに SMA による接近が期待されている。

SMA の測定装置には, 従来, いろいろの種類のもが考案されているが, それらの測定原理は主に位置移動の検知を主体とした Photo-Cell 法や振動法を応用したものである。なお, 赤外線を用いた Opto-Varimex 法も開発されているが, この装置は高価であるなどの難点がある。最近, 教室の伊藤ら²⁻⁶⁾は赤外線を用いたマウス運動量測定装置を開発した。本装置の特徴は安価で, 操作が簡単で, 行動指標が定量化でき, しかも, 多数例のマウスの SMA を個体ごとに VMA と HMA の二つの運動活性に分けて, 同時測定することができることである。従来, マウスの SMA に及ぼす methamphetamine および morphine の影響についてはいく

つかの報告はあるが、運動量の成分を VMA と HMA に分けて分析した報告はない。本実験ではこの装置を用いて、methamphetamine および morphine のマウス VMA および HMA に及ぼす効果について比較検討した。

Methamphetamine 0.1mg/kg 投与では VMA および HMA の最大効果は対照群のそれよりもやや低い値を示したが、その効果の持続時間はむしろ延長した。この最大効果の低下は apomorphine 小量による効果、すなわち、pre-synapse に作用して SMA を抑制する現象⁷⁾に似ている。methamphetamine は、一般にマウスの SMA を増大させることが知られている^{1,8,9)}が、本実験においては、methamphetamine の小量はマウスの SMA を軽度抑制した。このことは、従来、報告されていないことである。しかし、methamphetamine 1 mg/kg 投与では VMA および HMA は増大し、その効果の持続時間は著しく延長した。このことは従来報告されているように、methamphetamine の synapse レベルにおける catecholamine の放出促進と再取込み抑制^{10,11)}が関与しているものと考えられる。なお、methamphetamine 0.1 および 1 mg/kg 投与による VMA および HMA の効果は用量依存的で、両用量とも同傾向の活性変化を示した。

Methamphetamine 10mg/kg の大量投与では VMA および HMA は質的に異なる二相性の活性変化を示した。すなわち、VMA では効果の持続期間の延長がみられたものの、最大効果は 1 mg/kg の場合と同程度であり、投与後 100 分以降ではさらに運動活性は増大した。一方、HMA では投与後 10 分～20 分の間で著明な運動活性の増大がみられたが、それ以後は急速に低下した。しかし、投与後 100 分以降では再び活性は増大した。つまり、methamphetamine 大量投与による VMA および HMA は、投与後 100 分以内では質的に異った活性変化を示したが、100 分以降では同傾向の活性変化を示した。この 100 分以降にみられる運動活性の増大は嗅ぎ、舐め、首振、施回、後ずさりなど、いわゆる常同

行動の発現が関与したためと考えられる¹²⁾。Taylor ら¹³⁾は adrenergic system が位置移動に、dopaminergic system が常同行動に関与するとしたが、Segal¹⁴⁾は dopaminergic system が両行動に関与すると反論した。著者らの VMA および HMA 効果には上述の運動活性の変化からみて、dopaminergic system の関与の可能性が示唆される。

要するに、methamphetamine のある適当量の範囲では用量依存的に VMA および HMA を増大し、しかも同傾向の運動活性を示した。しかし、大量では VMA および HMA は質的に異なる二相性の運動活性を示した。なお、VMA では投与後 100 分以内に観察される運動活性の増大は用量依存的であるが、最大効果には限界が存在することが示された。

次に、morphine はある種のマウスの SMA を促進することが知られている¹⁵⁾。著者らの ddY 系雄マウスでは、VMA は実験に用いた morphine のどの用量によっても完全に抑制された。従来、morphine による VMA の抑制効果についての報告はみあたらず、今回著者らの報告が最初である。一方、HMA は morphine の小量で抑制されたが、10mg/kg, s.c. 以上の大量では用量依存的に増大した。この HMA の増大は従来報告されている morphine による運動促進¹⁵⁾と一致するものである。

Morphine によるマウスの運動促進時には、線条体において、ddY 系では dopamine-turnover の減少¹⁶⁾が、C₅₇BL/6J 系では dopamine の放出促進と 3-methoxytyramine 量の増大¹⁵⁾ (著者らも未発表であるが、ddY 系雄マウスにおいて morphine 投与による 3-methoxytyramine 量の増大を認めている) および enkephalin の量や opiate receptor の数の不変¹⁷⁾が報告されている。これに対して、DBA/2J 系マウスでは morphine による運動促進はほとんどみられなく、線条体での 3-methoxytyramine 量は逆に減少することが報告されている¹⁵⁾。また、Wistar 系ラットでは morphine 10mg/kg により運動は抑制され、しかも線条体での dop-

amine の放出も抑制されるが, dopamine-turnover は逆に増大することが報告されている^{18,19)}。

以上のように, マウスやラットでは morphine による運動活性は脳内 catecholamine 系によって仲介されていることが知られている^{1,15)}が, その作用態度は種属・系統依存性で, しかも脳の各部によって異なることが報告されている²⁰⁾。また, morphine による鎮痛作用と運動促進作用はそれぞれ別な機序によって引き起こされることが示唆されている^{1,15)}。このようなことから, 本実験で観察された morphine による HMA の増大の機序は鎮静作用のそれとは別なものであると考えられる。むしろ, VMA 効果の機序が関係しているのではないかと推測されるが本実験からは明らかでない。要するに, 本実験で観察された morphine による VMA と HMA の効果は別々な機序で引き起こされた現象と考えられる。

なお, opiate receptor は presynaptic の所にも存在する²¹⁾ことが知られていることから, morphine の小量は最初この部分に作用して dopamine 放出の減少や, dopamine-turnover の増大など, positive feed back 機構が関与して運動活性低下を引き起こすものと考えられる¹⁹⁾。一方, morphine の運動活性増大には catecholamine 系の関与が知られているが^{1,15)}, 最近, muscarine 系や H₂-histamine 系²²⁾, serotonin 系²³⁾などの関与も示唆されてきている。従って, morphine の運動活性に対する作用態度は従来考えられてきたものより複雑であり, 今後の検討が期待される。

結 論

本研究において, ddY 系雄性マウスにおける methamphetamine および morphine の VMA と HMA に及ぼす効果が, マウスの運動活性成分を VMA と HMA に分けて同時測定することができる赤外線を用いた装置を用いて, 比較検討された。

1. 生理食塩水投与群 (対照群): VMA と HMA の両者は投与後10分に最大効果を示し, その後は漸次減少した。なお, 50分以降では両者とも運動活性は検知されなかった。

2. Methamphetamine 投与群: 1) 0.1mg/kg, s.c. では VMA と HMA は対照群よりも低い活性を示したが, 効果持続期間は延長した。2) 1 mg/kg, s.c. では VMA は対照群よりも高い活性を, HMA では同程度の活性を示した。なお, 両者の効果持続期間は著明に延長した。3) 10mg/kg, s.c. では VMA は初期には対照群と同程度の活性を示したが, 100分以降では有意に高い活性を示した。一方, HMA では投与後10分で対照群より有意に高い活性を示し, その後急速に減少し, 100分以降では再び増大した。要するに, methamphetamine の大量では VMA と HMA は質的に異なる二相性の活性変化を示した。

3. Morphine 投与群: 1) 2 mg/kg, s.c. では VMA と HMA は対照群よりも低い活性変化を示した。2) 10および50mg/kg, s.c. では VMA は減少し, 運動活性は検知されなかった。これに対して, HMA は用量に相関して活性増大を示した。

Abstract: The effects of methamphetamine and morphine on the vertical (VMA) and horizontal motor activity (HMA) in male mice of the ddY strain, weighing 24-28g, were investigated, using an optical movement counter developed by Itoh and collaborators. All measurements were taken at 10 min. intervals during the 180 min. period following administration of the drugs. The results are summarized as follows.

When administering methamphetamine;

- 1) With 0.1 mg/kg, s.c., the VMA and HMA slightly decreased.
- 2) With 1 mg/kg, s.c., the VMA and HMA increased.
- 3) With 10 mg/kg, s.c., the VMA and HMA markedly increased, showing biphasic patterns that quantitatively differ from the changes found in a low dose (1 mg/kg)-induced VMA and HMA.

When administering morphine;

- 1) With any dose used in this study, the VMA decreased.
- 2) With a low dose (2 mg/kg), the HMA decreased, but with a high dose (10 mg/kg or more) the HMA increased dosedependently.

These results show that methamphetamine and morphine exert different effects on the VMA and HMA in mice, depending upon the dosage.

文 献

- 1) 栗原 久, 田所作太郎: 向精神薬の行動薬理学—前臨床試験について—, 神経精神薬理, 7, 299-334, 1985.
- 2) 伊藤忠信, 村井繁夫, 吉田 照, 増田義勝, 齊藤弘子: 簡易なマウス垂直および水平運動量測定装置の試作とそれによる methamphetamine の効果, 薬物・精神・行動, 5, 19-23, 1985.
- 3) 伊藤忠信, 村井繁夫, 陳 慶勲, 田島 守: 赤外線発光ダイオードを用いたマウスの垂直並びに水平運動量の測定装置—methamphetamine の効果の測定—, 岩手医誌, 38(2), 1986に掲載予定.
- 4) 伊藤忠信, 増田義勝: マウスにおける垂直および水平運動測定装置の試作, 薬物・精神・行動, 5, 171-172, 1985.
- 5) Itoh, T., Murai, S., Masuda, Y., Saito, H. Chin, H.C., Yoshida, H. and Hirai, T. : Effects of several drugs on vertical and horizontal movement activities in mice. *Jap. J. Pharmacol.* 37 : 238P, Suppl, 1985.
- 6) Murai, S., Masuda, Y., Itsukaichi, O., Kikuchi, Y., Nakamura, J. and Itoh, T. : Differences of effects of morphine on vertical and horizontal components of locomotion in mice. *Jap. J. Pharmacol.* 39 : 353P, Suppl. 1985.
- 7) Herman, J.P., Stinus, L. and Le Moal, M. : Repeated stree increase locomotor response to amphetamine. *Psychopharmacol.* 84 : 431-435, 1984.
- 8) Hirabayashi, M. and Alam, M.R. : Enhncing effect of methamphetamine on ambulatory activity produced by repeated administration in mice. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 15 : 925-932, 1981.
- 9) Kuribara, H. and Tadokoro, S. : Circadian variation in methamphetamine and apomorphine -induced in ambulatory activity in mice. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 17 : 1251-1256, 1982.
- 10) Ernst, A.M. : Mode of action of apomorphine and dexamphetamine gnawing compulsion in rats. *Psychofarmacol.* (Berlin), 10 : 316-326, 1967.
- 11) Van Rossum, J.M. : Mode of action of psychomotor stimulant drugs. *Int. Rev. Neurobion.* 12 : 307-383, 1970.
- 12) 平林牧三, 祝井文治, 飯塚正博, 目崎岳郎, M.R. Alam, 田所作太郎: Methamphetamine, d-amphetamine あるいは morphine 投与時のマウス自発運動促進効果の個体差, 日薬理誌, 75, 683-693, 1979.
- 13) Taylor, K.M. and Snyder, S.H. : Differential effects of d- and l-arphetamine on behavior and on catecholamine disposition in dopamine and norepinephrine containing neurons of rat brain. *Brain Res.* 28 : 295-309, 1971.
- 14) Segal, D. : Behavioral characterization of d- and l-amphetamine : Neurochemical implications. *Science*, 190 : 475-477, 1975.
- 15) Loth, H.H. and Ross, D.H. : Adv. Biochem. Psychopharmacol. Vol. 20 : Opiate actions, catecholamines and locomotor activity in mice. 369-370, Raven Press N.Y. 1979.
- 16) Kameyama, T., Ukai, M., Soma, S. and Hiramatsu, M. : Differential effects of α -, β - and γ -endorphine on dopamine metabolism in the mouse brain. *Brain Res.* 244 : 305-309, 1982.
- 17) Brunello, N., Volterra, A., Digulio, A.M., Cuomo, V. and Racogni, G. : Modulation of opioid system in C57 mice after repeated treatment with morphine and naloxone : Biochemical and behavioral correlates. *Life Sci.* 34 : 1669-1678, 1984.
- 18) Algeri, S., Calderini, G., Consolazione, A. and Garatini, S. : The effect of metionine-enkephalin and D-alanine metionine enkephalinamide on the concentration of dopamine metabolites in rat striatum. *Europ. J. Pharmacol.* 45 : 207-209, 1977.
- 19) Murakami, H. and Segawa, T. : Effect of apomorphine on morphine induced decrease in locomotor activity and increase in dopamine turnover in rat. *Jap. J. Pharmacol.* 30 : 565-567, 1980.
- 20) Alper, R.H., Demarest, K.T. and Moore, K.E. : Morphine differentially alters synthesis and central neuronal systems. *J. Neural Transmission*, 49 : 157-165, 1980.
- 21) Van Loon, C.R. and Kim, C. : β -endorphine -induced increase in striatal dopamine turnover. *Life Sci.* 23 : 961-970, 1978.
- 22) Pant, K.K., Gurtu, S., Nath, C. Sinha, J.N. and Bhargava, K.P. : Evidence for the involvement of central muscarinic cholinergic and H₂-histaminergic receptors in morphine induced hyperactivity in the mouse. *Indian J. Med. Res.* 78 : 587-592, 1983.
- 23) Johnston, C.A. and Moore, K.E. : The effect of morphine on 5-hydroxytryptamine synthesis and metabolism in the striatum, and several discrete hypothalamic regions of the rat brain. *J. Neural Transmission*, 57 : 65-73, 1983.