慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	プラナリア(Dugesia japonica)における条件性場所選好 : D1・ D2選択的拮抗薬の効果
Sub Title	Conditioned place preference in planarians (Dugesia japonica) : efects of selective D1 and D2 antagonists
Author	草山, 太一(Kusayama, Taichi) 渡辺, 茂(Watanabe, Shigeru)
Publisher	慶應義塾大学大学院社会学研究科
Publication year	2002
Jtitle	慶応義塾大学大学院社会学研究科紀要 : 社会学心理学教育学 : 人間と社会の探究 (Studies in sociology, psychology and education : inquiries into humans and societies). No.55 (2002.) ,p.1- 4
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	論文
Genre	Departmental Bulletin Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN0006957X-00000055-0001

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

プラナリア (*Dugesia japonica*) における条件性場所選好

——D1・D2 選択的拮抗薬の効果——

Conditioned place preference in planarians (*Dugesia japonica*)

—Effects of selective D1 and D2 antagonists—

草山太一*・渡辺茂**

Taichi Kusayama *Shigeru Watanabe*

Effects of D1 and D2 selective dopamine antagonists (SCH23390 and sulpiride) on conditioned place preference (CPP) with methamphetamine were examined in planarians. Both selective D1 and D2 antagonists blocked the reinforcing effect of methamphetamine (0.125 mg/kg). The present results suggest that both D1 and D2 receptors have roles in expression of reinforcing effect of methamphetamine in planarians.

Keywords: Conditioned place preference, Methamphetamine, planaria, selective dopamine antagonists

薬物の強化効果について種間比較することは、ヒトの薬物乱用の系統発生的起源を知る上で重要な研究である。条件性場所選好 (conditioned place preference: CPP) の手続きを用いてドーパミン作用薬であるメタンフェタミン (methamphetamine: MAP) を検討した報告では、齧歯類 (Masukawa, Suzuki & Misawa, 1993; Suzuki, Mori, Tsuji, Misawa & Nagase, 1994; Tokuyama, Takahashi & Kaneto, 1996) のみならず，鳥類 (Tuazon, 1993)、魚類 (Tuazon, 1993) においても強化効果が確認されている。Kusayama & Watanabe (2000) は，さらに進化的にさかのぼって，無脊椎動物で系統発生的に最初に脳を有する生物と考えられているプラナリアを対象に CPP の手続きより MAP の強化効果について検討した。その結果，プラナリアにおいても MAP の用量に依存した選好の変化が認められ，さらにこの強化効果がドーパミン複合拮抗薬であるハロペリドールの前処置によって阻害されることを示した。プラナリアには血液循環器系が認められず，このことから「脳-血液関門」を考慮しないで直接にドーパミンの効果を検討することができる。このため，神経伝達物質の解明やパーキンソン病の研究モデルとして有用と考えられている (Carolei, Margotta & Palladini, 1975)。

強化効果に作用するドーパミン受容体のサブタイプについては、ラットのコカイン自己投与が D1 拮抗薬で強く抑制されることから，D1 タイプの強い作用が示されている (Caine & Koob, 1994)。一方，D1 レセプター欠損マウスでコカインによる CPP が成立するという報告 (Miner, Drago, Chamberlain,

* 慶應義塾大学大学院社会学研究科心理学専攻博士課程

** 慶應義塾大学文学部心理学専攻教授

Donovan & Uhl, 1995) もあり，D1・D2 の両タイプとも同程度に強化効果に関係することが示唆されている。そこで本研究では，プラナリアの MAP による CPP について D1・D2 の選択的拮抗薬の前処置をそれぞれおこない，D1・D2 タイプの関与を検討することを目的とする。

方　法

被験体　ナミウズムシ (*Dugesia japonica*) 138 匹を用いた。扁形動物門，渦虫綱の総称として呼ばれるプラナリアの中でも，ナミウズムシは日本列島全域に広く生息する種として知られているが，本実験で用いた被験体はすべて神奈川県秦野市に流れる水無川上流域で採取された。ナミウズムシは 14～18℃ の冷暗所内で，水道水を 2～3 日放置した汲み置き水を用いて飼育した。餌は赤色ユスリカの幼虫を与えた。Venturini, Stocchi, Margotta, Ruggieri, Bravi, Bellantuono & Palladini (1989) を参考に，少なくとも実験開始前 3 日間は餌を与えなかった。実験開始前に体重を測定したところ，3.6～29.8 mg の範囲で，平均 10.9 mg であった。体重差による影響を考慮して，各用量群についてそれぞれ群間の平均体重が等しくなるように振り分け，さらに体重に合わせた容量の薬物投与を行った。

装置　Kusayama & Watanabe (2000) に準拠した。ナミウズムシの行動は直径 9.5 cm のシャーレで観察された。シャーレ内を 4 分割し，その底に汲み置き水に浸したろ紙 (Whatman, #1) と薬包紙を交互に敷き詰め，ろ紙または薬包紙への選好を調べた。被験体の行動は 1 秒ごとにビデオ画像追跡ソフト (小原医科産業，NIH image of 2.08) を使用して計測された。条件づけに用いたシャーレには，被験体を一区画に閉じ込めるためにアクリル板の仕切りがあった。実験室の天井には 2 つの蛍光灯 (80 W) があり，白紙でカバーをかけて減光させた (176 lux)。拮抗薬の投与による前処置のために，シリコン製遠心分離器用チューブ (Safe Seal Microcentrifuge Tubes; BioScience, 11330) を使用した。

手続き　最初に，ろ紙と薬包紙のどちらにより長く滞在するか，条件づけ前の選好を 10 分間測定した。運動量が少なく一方にのみの滞在時間が 85% 以上の選好を示した個体は実験から排除した。次に 6 日間の条件づけを行った。1・3・5 日目には，拮抗薬 (SCH23390 または sulpiride) の入ったチューブに 2 時間投与後，ただちに MAP を投与し，20 分間非選好の紙の区画に入れた。2・4・6 日目には汲み置き水に 2 時間投与させてから，蒸留水を投与して条件づけ前に選好を示した紙の区画に入れた。6 日間の条件づけの翌日に，仕切り板のないシャーレ上で，再び 10 分間の選好テストを行った。

薬物　ドーパミン作用薬として，MAP（大日本製薬，Philopon）を用いた。MAP は蒸留水を溶媒として，用量が 0.125 mg/kg となるように調剤した。容量は 500 ml/kg になるようにした。MAP 投与は草山・渡辺 (1999) に準拠し，マイクロインジェクターに固定したビニール管と注射針を介して行われた。D1 選択的拮抗薬として SCH23390 (Sigma, C-206) を，D2 選択的拮抗薬として sulpiride (Sigma, S-7771) を用いた。SCH23390 は凍結保存した水溶液を汲み置き水を溶媒として，0.0001 mg/ml, 0.001 mg/ml, 0.01 mg/ml, 0.025 mg/ml となるように調剤した。Sulpiride は汲み置き水を溶媒として，0.01 mg/ml, 0.1 mg/ml, 1.0 mg/ml, 2.5 mg/ml, 5.0 mg/ml となるように調剤した。これらの拮抗薬の容量はすべて 0.5 ml であった。

結　果

Figure 1 に，SCH23390 の前処置を行った MAP による条件づけの結果を示す。各被験体ごとに MAP 投与と組み合わせた紙に対する条件づけ前後の滞在時間の差を算出し，群内で平均した値を CPP

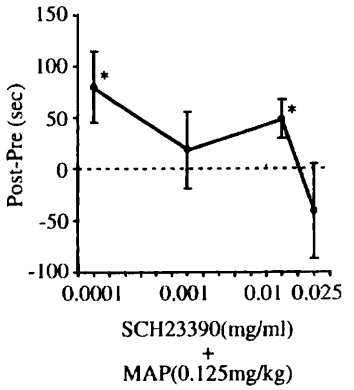

Figure 1. Pretreatment with SCH23390 inhibits reinforcing effect of methamphetamine (0.125 mg/kg). $N=16$, 14, 22 and 7 for 0.001 mg/ml,0.001 mg/ml, 0.01 mg/ml and 0.025 mg/ml SCH23390. Asterisks* indicate significance at $p<0.05$ between the initial preference and the preference after conditioning. The vertical bars represent SE.

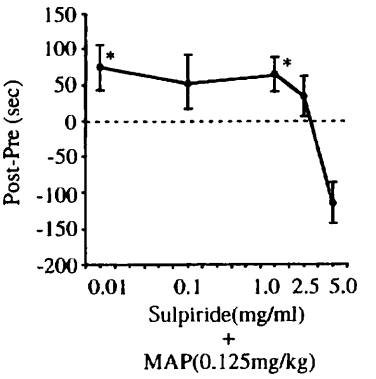

Figure 2. Pretreatment with sulpiride inhibits reinforcing effect of methamphetamine (0.125 mg/kg). $N=16$, 16, 28, 10, and 9 for 0.01 mg/ml, 0.1 mg/ml, 1.0 mg/ml, 2.5 mg/ml and 5.0 mg/ml sulpiride. Asterisks* indicate significance at $p<0.05$ between the initial preference and the preference after conditioning. The vertical bars represent SE.

成立の指標とした。それぞれの用量における条件づけ前の滞在時間には有意な差は認められなかった [一要因の分散分析, $F(3, 53)=0.74$]。0.001 mg/ml と 0.025 mg/ml 処置群においては，統計的に条件づけ前後で滞在時間に差がなく，条件づけの効果は認められなかった。特に 0.025 mg/ml の用量群では条件づけ前よりも滞在時間が減少した。一方，0.0001 mg/ml および 0.01 mg/ml においては，条件づけ後に MAP と組み合わせた紙への滞在時間は増加し，CPP の成立を見た [1 標本による t 検定, $t(15)=2.28$, $p<0.05$; $t(21)=2.47$, $p<0.05$]。

Figure 2 に，sulpiride の前処置を行った MAP による条件づけの結果を示す。それぞれの用量における条件づけ前の滞在時間には有意な差は認められなかったが [一要因の分散分析, $F(4, 74)=1.25$], 0.1 mg/ml・2.5 mg/ml で CPP を阻害し，5.0 mg/ml においては逆に嫌悪性が示された。しかし，0.01 mg/ml と 1.0 mg/ml では CPP の成立を見た [1 標本による t 検定, $t(15)=2.30$, $p<0.05$; $t(27)=2.64$, $p<0.05$]。

考　　察

プラナリアにおける MAP による CPP が，D1・D2 の選択的拮抗薬によって，それぞれ拮抗されることを示した。このことは Kusayama & Watanabe (2000) の結果を支持している。しかし，それぞれの用量反応関係をみると，SCH23390 の 0.01 mg/ml と sulpiride の 1 mg/ml の 2 用量について，Kusayama & Watanabe (2000) では MAP の CPP は上述の用量によって条件づけの効果は阻害されているのに対して，本実験では認められなかった。これらの知見から勘案するに，この程度の用量での効果ははっきりしないことが確認されたと考えられる。

D1 作用薬 (CY208243・SKF38393) と D2 作用薬 (LY141865) で異なる運動パターンを起こすこと

が報告され，プラナリアの運動系についてはD1・D2レセプターで機能が異なることが示唆されている(Venturini et al, 1989)。D1・D2レセプターの働きについて，D1レセプターが直接的に強化効果に関与するのに対して，D2レセプターは運動と連合した強化効果に関与するというモデルがある。しかし，一方でD2の2次的な働きを否定し，D1・D2レセプターが強化効果に関して複雑かつ相互的な作用を示すことも報告されている(McDougall, Crawford & Nonneman, 1992)。本実験の結果はプラナリアにおけるMAPの強化効果にD1・D2レセプターの両タイプが関与することを示した。

引用文献

Caine, S. B., & Koob, G. F. 1994 Effects of dopamine D-1 and D-2 antagonists on cocaine self-administration under different schedules of reinforcement in the rat. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 270, 209-218.

Carolei, A., Margotta, M. & Palladini, G. 1975 Proposal of a new model with dopaminergic-cholinergic interactions for neuropharmacological investigations. *Neuropsychology*, 1, 355-364.

草山太一・渡辺 茂 1999 プラナリア (*Dugesia japonica*) における薬物投与法の開発—ウレタン投与の効果—. 動物心理学研究, 49, 157-159.

Kusayama, T. & Watanabe, S. 2000 Reinforcing effects of methamphetamine in planarians. *Neuroreport*, 11, 2511-2513.

Masukawa, Y., Suzuki, T. & Misawa, M. 1993 Differential modification of the rewarding effects of methamphetamine and cocaine by opioids and antihistamines. *Psychopharmacology*, 111, 139-143.

McDougall, S. A., Crawford, C. A. & Nonneman, A. J. 1992 Reinforced responding of the 11-day-old rat pup: synergistic interaction of D1 and D2 dopamine receptors. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, 42, 163-168.

Miner, L. L., Drago, J., Chamberlain, P. M., Donovan, D. & Uhl, G. R. 1995 Retained cocaine conditioned place preference in D1 receptor deficient mice. *Neuroreport*, 6, 2314-2316.

Suzuki, T., Mori, T., Tsuji, M., Misawa, M. & Nagase, H. 1994 The role of δ-opioid receptor subtypes in cocaine- and methamphetamine-induced place preferences. *Life Sciences*, 55, 339-344.

Tokuyama, S., Takahashi, M. & Kaneto, H. 1996 The effect of ginseng extract on locomotor sensitization and conditioned place preference induced by methamphetamine and cocaine in mice. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, 54, 671-676.

Tuazon, D. T. 1993 The neuropsychopharmacological bases of reward : A view from the conditioned place preference paradaigm. (*Keio University, Tokyo, Dissertation*)

Venturini, G., Stocchi, F., Margotta, M., Ruggieri, S., Bravi, D., Bellantuono, P. & Palladini,G. 1989 A pharmacological study of dopaminergic receptors in planaria. *Neuropharmacology*, 28, 1377-1382.