

# Involvement of 5-HT<sub>1A</sub> Receptor in Marble-Burying Behavior as an Animal Model of Obsessive-Compulsive Disorder

Michihiko MATSUSHITA<sup>1)</sup>, Nobuaki EGASHIRA<sup>2)</sup>, Satoko HARADA<sup>2)</sup>,  
Ryoko OKUNO<sup>2)</sup>, Hiroshi NAGAI<sup>1)</sup>, Shozo CHIDORI<sup>1)</sup>,  
Naoki UCHIDA<sup>1)</sup>, Kenichi MISHIMA<sup>2)</sup>, Katsunori IWASAKI<sup>2)</sup>,  
Michihiro FUJIWARA<sup>2)</sup> and Ryoji NISHIMURA<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Department of Psychiatry, Fukuoka University School of Medicine, Fukuoka University

<sup>2)</sup> Department of Neuropharmacology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Fukuoka University

**Abstract :** In the present study, we examined the involvement of serotonin (5-hydroxytryptamine, 5-HT) 5-HT<sub>1A</sub> receptor in marble-burying behavior, which has been considered to be an animal model of obsessive-compulsive disorder (OCD). 8-OH-DPAT, a full 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonist, inhibited marble-burying behavior without affecting the locomotor activity at a dose of 3 mg/kg (i.p.). Buspirone, a partial 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonist, tended to inhibit the marble-burying behavior at a dose of 60 mg/kg (p.o.). Moreover, the inhibition of marble-burying behavior by 8-OH-DPAT was antagonized by WAY-100635 (3 mg/kg, i.p.) or WAY-100135 (10 mg/kg, i.p.), 5-HT<sub>1A</sub> receptor antagonists. These findings suggest that 5-HT<sub>1A</sub> receptor may therefore play an important role in marble-burying behavior.

**Key words :** Marble-burying behavior, Obsessive-compulsive disorder, 5-HT<sub>1A</sub> receptor, 8-OH-DPAT

## 強迫性障害の動物モデル Marble-burying 行動における セロトニン<sub>1A</sub> 受容体の関与

松下 満彦<sup>1)</sup> 江頭 伸昭<sup>2)</sup> 原田 聡子<sup>2)</sup>  
奥野 良子<sup>2)</sup> 永井 宏<sup>1)</sup> 千鳥 正三<sup>1)</sup>  
内田 直樹<sup>1)</sup> 三島 健一<sup>2)</sup> 岩崎 克典<sup>2)</sup>  
藤原 道弘<sup>2)</sup> 西村 良二<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 福岡大学医学部精神医学教室

<sup>2)</sup> 福岡大学薬学部臨床疾患薬理学教室

**要旨 :** 今回我々は、ガラス玉覆い隠し行動におけるセロトニン<sub>1A</sub> 受容体の関与について行動薬理的検討を行った。その結果、セロトニン<sub>1A</sub> 受容体完全作動薬である 8-OH-DPAT は、全運動量を低下させることなくガラス玉覆い隠し行動を有意に抑制した。一方、セロトニン<sub>1A</sub> 受容体部分作動薬である buspirone は、有意ではないが抑制傾向であった。このような抑制作用の違いは、セロトニン<sub>1A</sub> 受容体に対する作用の強さの違いによるものと考えられた。さらに、8-OH-DPAT による抑制作用は、セロトニン<sub>1A</sub> 受容体遮断薬である WAY-100635 および WAY-100135 によって拮抗された。これらのことから、8-OH-DPAT のガラス玉覆い隠し行動の抑制作用は、セロトニン<sub>1A</sub> 受容体を介していることが示唆された。以上のことから、ガラス玉覆い隠し行動は、セロトニン<sub>1A</sub> 受容体が重要な役割を果たしていることがわかった。また、ガラス玉覆い隠し行動は強迫性障害の動物モデルであることから、セロトニン<sub>1A</sub> 受容体作動薬は強迫性障害の治療薬としての可能性が示唆された。

キーワード：ガラス玉覆い隠し行動，強迫性障害，セロトニン<sub>1A</sub> 受容体，8-OH-DPAT

## はじめに

強迫性障害 (obsessive-compulsive disorder : OCD) は、反復的、持続的な思考などが強い不安や苦痛を生じる「強迫観念」と、苦痛や不安を緩和するために反復的行動が駆り立てられる「強迫行為」を特徴とする精神障害であり、WHO の国際分類<sup>1)</sup> では「神経症性障害、ストレス関連障害および身体表現性障害」、そして米国精神医学会の DSM-IV 分類<sup>2)</sup> では「不安障害」の項目に含まれ、ストレスや不安に関係している疾患である。

このような OCD は19世紀末から精神分析学的見地からの研究が多くなされ<sup>3)</sup>、心理学的要因に注目されてきた。周知のとおり Freud は OCD の起源を肛門期 (1—3 歳頃) の排泄をめぐる子どもの要求と親の干渉との相互関係の結果、この肛門期をうまく通過できず、不安や葛藤が再体験され耐えられない場合に肛門期への退行が生じると考えた。それ以来、多くの分析家により OCD と強迫性格との関連性について報告されてきた<sup>4)-6)</sup>。

しかし、1968年に OCD に対する塩酸クロミプラミンの有効性<sup>7)</sup> が報告されて以来、20世紀末には強迫症状をもつ精神疾患を対象とした研究をもとに精神障害が分類し直され、強迫症状を有する疾患を強迫関連障害スペクトラム (obsessive-compulsive related disorders spectrum : OCRDS) とする新しい概念が提唱されるようになった<sup>8)</sup>。また、このクロミプラミンがセロトニン再取り込み阻害作用をもっていることから、OCD の仮説としてセロトニン神経系の障害が考えられるようになった。そして、最近市販された選択的セロトニン再取り込み阻害薬 (selective serotonin reuptake inhibitor : SSRI) が OCD に有効であることから、さらにセロトニン神経系が重要視されることとなり、近年では生物学的な立場から様々な研究が行われてきている。

ところで、以前の研究において、我々は、生物学的な立場から、marble-burying 行動 (ガラス玉覆い隠し行動) が特にセロトニン神経系に関係している OCD の治療薬スクリーニングモデルとして有用であることを報告した<sup>9)</sup>。そこで今回我々は、セロトニン受容体のうち、ストレスや不安、抑うつに関与が大きいセロトニン<sub>1A</sub> 受容体<sup>10)</sup> に着目し、ガラス玉覆い隠し行動におけるセロトニン<sub>1A</sub> 受容体の関与について行動薬理的検討を行った。

## 実験方法

### 実験動物ならびに飼育方法

実験動物は、5—6 週齢 (体重 25—35g) の ICR 系雄性マウス (日本 SLC 株式会社、静岡) を用いた。マウスは、プラスチックケージ (30×35×17cm) の中で群飼育し、室温 25±2 °C、湿度 60±2 % および 12 時間の明暗サイクル (7 : 00 AM 点灯) の実験室で飼育した。なお、水および餌 (CE-2 ; 日本クレア株式会社、東京) は自由に摂取できるようにした。実験動物の取り扱いについては、福岡大学動物実験委員会の取り扱い細則に準じた。

### 実験装置

実験装置は上方が開放された透明な箱 (30×30×28 cm) に、おがくず (BEST CHIP ; 九動) を深さ 5 cm 程敷き、その上に直径 1.5cm のガラス玉を 25 個使用し、均一な間隔に配置したものを使用した。さらに、その箱のすぐ上部に、放出赤外線検出型センサー (NS-AS01, Neuroscience Inc, 東京) を設置し、インターフェイスを介してコンピューターに随時出力カウントを記録し、解析ソフト (マルチデジタル 32 ポート カウントシステム 1.05.0002, ㈱NMR) でマウスの運動量を解析した。

### 使用薬物と調製方法

Buspirone (Sigma, USA) は精製水に溶解し経口投与した。8-OH-DPAT (Sigma, USA)、WAY-100635 (Sigma, USA) および WAY-100135 (Toocris, USA) は生理食塩水に溶解し、順番に腹腔内投与した。

### 測定方法

各種薬物をマウスに投与し、経口投与は 60 分後、腹腔内投与は 30 分後に、上記の透明な箱に移し、ガラス玉覆い隠し行動を 30 分間観測した。そして、実験終了後、マウスを取り出し、おがくずに 3/4 以上覆い隠されたガラス玉の数をガラス玉の覆い隠し数として評価した。また同時にマウスの運動量は、30 分間の自発運動量を全運動量として評価した。

### 統計処理

ガラス玉覆い隠し行動については、Kruskal-Wallis test および Mann-Whitney U-test を用いた。マウスの運動量は一元配置分散分析および Bonferroni test を用い検定した。

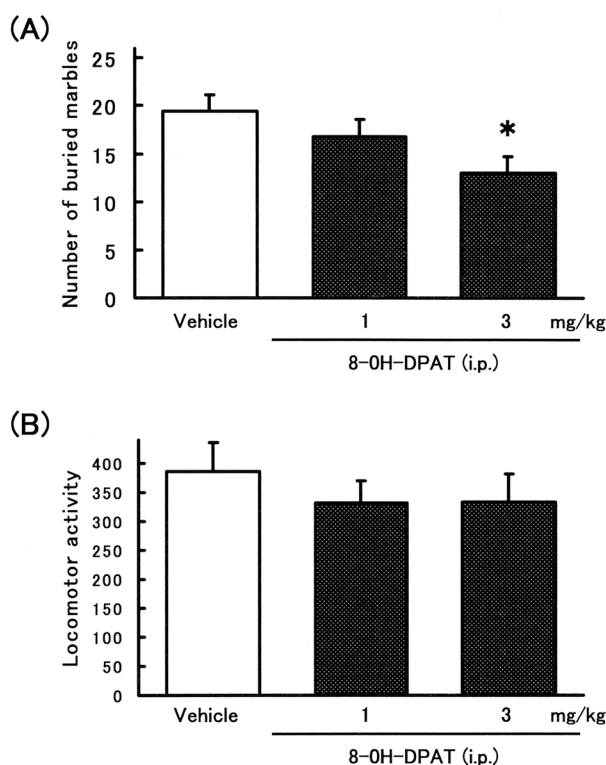


Fig. 1. Effect of 8-OH-DPAT on the marble-burying behavior in mice. (A) marble-burying behavior, (B) locomotor activity. The data are expressed as the means  $\pm$  SEM of  $n=8-12$  mice per group. \* $P<0.05$  compared to the group treated with vehicle (Mann-Whitney  $U$ -test).

### 実験結果

セロトニン<sub>1A</sub>受容体完全作動薬である 8-OH-DPAT は、3mg/kg の用量でガラス玉覆い隠し行動を抑制した。全運動量には影響しなかった (Fig. 1. A, B)。つぎに、セロトニン<sub>1A</sub>受容体部分作動薬である buspirone は、60mg/kg の用量でガラス玉覆い隠し行動に対して有意ではないが抑制傾向を示した ( $p=0.061$ , Fig. 2. A, B)。

次に、8-OH-DPAT のガラス玉覆い隠し行動の抑制作用におけるセロトニン<sub>1A</sub>受容体の関与を検討した。8-OH-DPAT (3mg/kg) に選択的セロトニン<sub>1A</sub>受容体遮断薬である WAY-100635 (3mg/kg) を併用したところ、8-OH-DPAT のガラス玉覆い隠し行動の抑制作用は拮抗された (Fig. 3. A, B)。同様に、8-OH-DPAT のガラス玉覆い隠し行動の抑制作用はセロトニン<sub>1A</sub>受容体遮断薬である WAY-100135 (10mg/kg) によっても拮抗された (Fig. 4. A, B)。

### 考 察

以前の研究で、fluvoxamine および paroxetine がガ

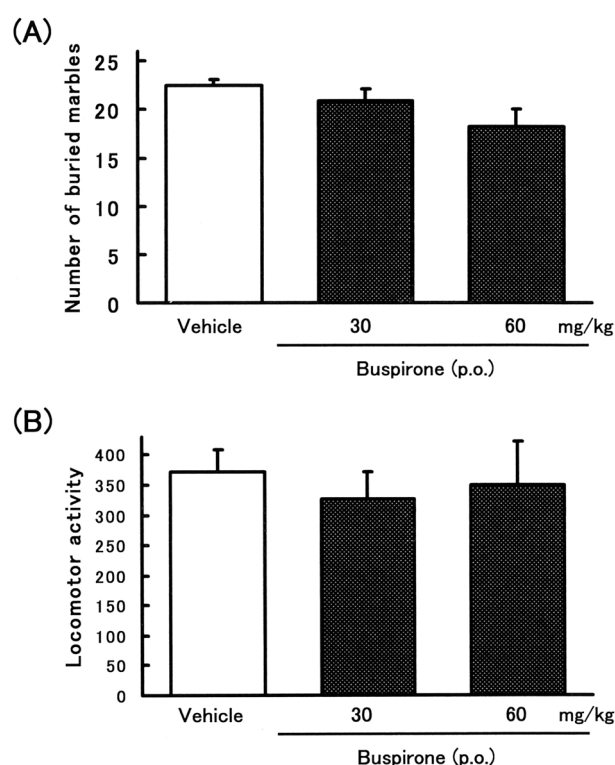


Fig. 2. Effect of buspirone on the marble-burying behavior in mice. (A) marble-burying behavior, (B) locomotor activity. The data are expressed as the means  $\pm$  SEM of  $n=11-16$  mice per group.  $P=0.061$  compared to the group treated vehicle vs buspirone (Mann-Whitney  $U$ -test).

ラス玉覆い隠し行動を有意に抑制したことから、この行動はセロトニン神経系が関与する抗 OCD 効果を検出できるモデルであることを報告した<sup>9)</sup>。また、セロトニン<sub>1A</sub>受容体は、中脳、橋の縫線核や皮質、視床、扁桃体、海馬に多く分布しており、記憶やストレス、不安、抑うつなどの情動行動に関与していることが報告されている<sup>10)11)</sup>。

そこで今回我々は、セロトニン<sub>1A</sub>受容体に着目し、ガラス玉覆い隠し行動におけるセロトニン<sub>1A</sub>受容体の関与について行動薬理的検討を行った。まず、セロトニン<sub>1A</sub>受容体完全作動薬である 8-OH-DPAT (3 mg/kg)<sup>12)</sup> は、全運動量を低下させることなくガラス玉覆い隠し行動を有意に抑制した。次に、セロトニン<sub>1A</sub>受容体部分作動薬である buspirone (60mg/kg) は、ガラス玉覆い隠し行動に対して抑制傾向を示した。Ichimaru ら<sup>13)</sup> は buspirone がガラス玉覆い隠し行動を抑制することを報告しており、ほぼ一致していた。これらのことから、セロトニン<sub>1A</sub>受容体作動薬はガラス玉覆い隠し行動を抑制することがわかった。

ところで、8-OH-DPAT はガラス玉覆い隠し行動に対して抑制作用を示すセロトニン<sub>1A</sub>受容体完全作動薬

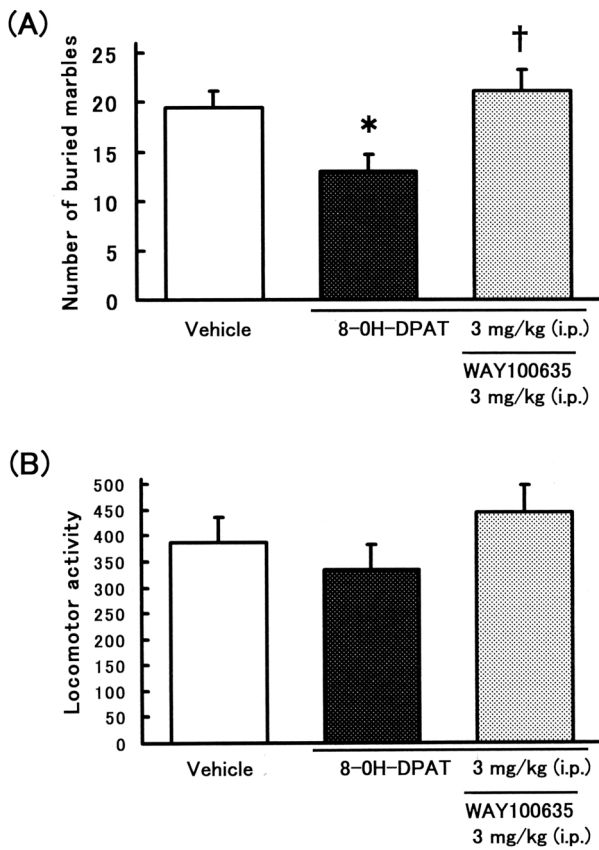


Fig. 3. Effect of WAY-100635 on the inhibition of marble-burying behavior by 8-OH-DPAT in mice. (A) marble-burying behavior, (B) locomotor activity. The values are expressed as the means  $\pm$  SEM of  $n=8-12$  mice per group. \* $P<0.05$  compared to the group treated with vehicle (Mann-Whitney  $U$ -test), † $P<0.05$  compared to the group treated with 8-OH-DPAT alone (Bonferroni test).

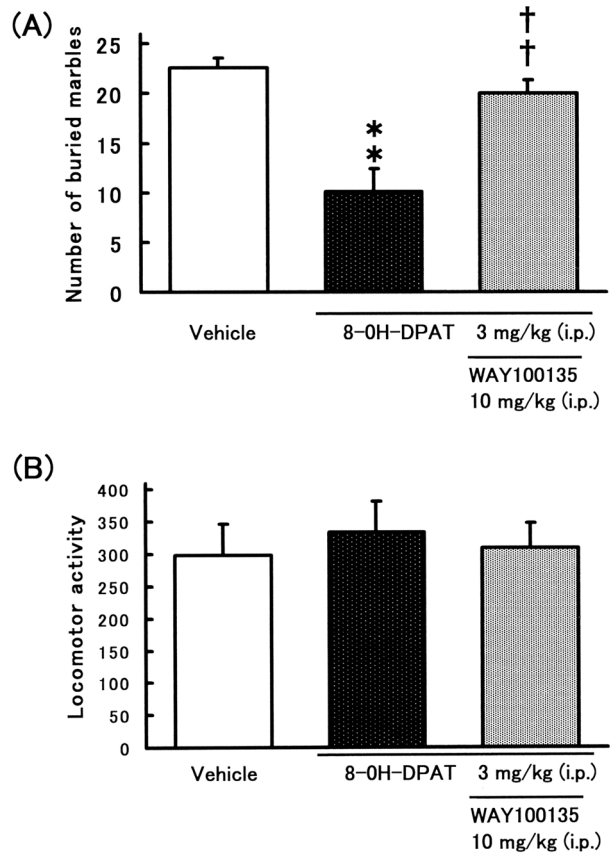


Fig. 4. Effect of WAY-100135 on the inhibition of marble-burying behavior by 8-OH-DPAT in mice. (A) marble-burying behavior, (B) locomotor activity. The values are expressed as the means  $\pm$  SEM of  $n=8-9$  mice per group. \*\* $P<0.01$  compared to the group treated with vehicle (Mann-Whitney  $U$ -test), †† $P<0.01$  compared to the group treated with 8-OH-DPAT alone (Bonferroni test).

ではあるが、最近、セロトニン<sub>7</sub> 受容体にも親和性をもつことが報告されている<sup>14)</sup>。そこで、8-OH-DPAT のガラス玉覆い隠し行動の抑制作用は、セロトニン<sub>1A</sub> 受容体を介しているかどうかを明らかにするため、セロトニン<sub>1A</sub> 受容体遮断薬の作用を検討した。その結果、8-OH-DPAT のガラス玉覆い隠し行動の抑制作用は、セロトニン<sub>1A</sub> 受容体遮断薬である WAY-100635 (3 mg/kg) によって完全に拮抗された。この WAY-100635 はシナプス前部および後部におけるセロトニン<sub>1A</sub> 受容体を遮断することから<sup>15)</sup>、8-OH-DPAT のガラス玉覆い隠し行動の抑制作用は、セロトニン<sub>1A</sub> 受容体を介していることが明らかとなった。さらに、この 8-OH-DPAT の抑制作用はシナプス前部あるいは後部のどちらかのセロトニン<sub>1A</sub> 受容体を介しているのかを明らかにするために、WAY-100135 の作用について検討した。その結果、WAY-100135 (10mg/kg) は 8-OH

-DPAT の抑制作用を同様に拮抗した。WAY-100135 はセロトニン<sub>1A</sub> 受容体に対して部分作動薬として作用し<sup>16) 17)</sup>、シナプス後部に対してのみ遮断作用を示す。このことから、8-OH-DPAT の抑制作用にはシナプス後部のセロトニン<sub>1A</sub> 受容体が関与していることが示唆された。

以上のことから、ガラス玉覆い隠し行動にはシナプス後部のセロトニン<sub>1A</sub> 受容体が関与していることがわかった。また、ガラス玉覆い隠し行動は強迫性障害の動物モデルであることから、セロトニン<sub>1A</sub> 受容体作動薬は強迫性障害の治療薬としての可能性が示唆された。

## 文 献

- 1) 中根充文, 岡崎裕志, 藤原妙子訳: ICD-10 精神および行動の障害—DCR 研究用診断基準. 医学書院 (東京), 1994.

- 2) 高橋三郎, 大野 裕, 染谷俊之訳: DSM-IV 精神疾患の診断・統計マニュアル. 医学書院 (東京), 1996.
- 3) 小此木啓吾訳: 強迫神経症の一症例に関する考察. フロイト著作集 9. pp. 213-282, 人文書院 (東京), 1983.
- 4) 下坂幸三ほか訳: 心的障害の精神分析に基づくリビドー発達試論. アーブラハム論文集. pp. 19-97, 岩崎学術出版社 (東京), 1993.
- 5) 中井久夫, 山口直彦, 松川周吾: 精神医学の臨床研究. みすず書房 (東京), 1983.
- 6) Freud A: Obsessional neurosis: a summary of psycho-analytic views as presented at the Congress. *Int J Psychoanal* 47: 116-122, 1966.
- 7) Van Renynghe de Voxvrie: Use of anafranil (G34586) in obsessive neuroses. *Acta Neurol Psychiatr Belg* 68: 787-92, 1968.
- 8) Hollander E, Kwon JH, Stein DJ, Broatch J, Rowland CT, Himelein CA: Obsessive-compulsive and spectrum disorders; overview and quality of life issues. *J Clin Psychiatry* 57: 3-6, 1996.
- 9) 松下満彦, 江頭伸昭, 原田聡子, 奥野良子, 永井 宏, 千鳥正三, 三島健一, 岩崎克典, 藤原道弘, 西村良二: 強迫性障害の動物モデルである Marble-burying 行動の基礎的研究. *福岡大医紀* 32: 159-165, 2005.
- 10) Menard J, Treit D: Effects of centrally administered anxiolytic compounds in animal models of anxiety. *Neurosci Biobehav Rev* 23: 591-613, 1999.
- 11) File SE, Gonzalez LE, Andrews N: Comparative study of pre- and postsynaptic 5-HT<sub>1A</sub> receptor modulation of anxiety in two ethological animal tests. *J Neurosci* 16: 4810-4815, 1996.
- 12) Gozlan H, El Mestikawy S, Pichat L, Glowinski J, Hamon M: Identification of presynaptic serotonin auto-receptors using a new ligand: 3H-PAT. *Nature* 305: 140-2, 1983.
- 13) Ichimaru Y, Egawa T, Sawa A: 5-HT<sub>1A</sub>-Receptor Subtype Mediates the Effect of Fluvoxamine, a Selective Serotonine Reuptake Inhibitor, on Marble-burying Behavior in Mice. *Jpn J Pharmacol* 68: 65-70, 1995.
- 14) Duncan MJ, Short J, Wheeler DL: Comparison of the effects of aging on 5-HT<sub>7</sub> and 5-HT<sub>1A</sub> receptors in discrete regions of the circadian timing system in hamsters. *Brain Res* 829: 39-45, 1999.
- 15) Fletcher A, Forster EA, Bill DJ, Brown G, Cliffe IA, Hartley JE, Jones DE, McLenachan A, Stanhope KJ, Critchley DJ, Childs KJ, Middlefell VC, Lanfumey L, Corradetti R, Laporte AM, Gozlan H, Hamon M, Dourish CT: Electrophysiological, biochemical, neurohormonal and behavioural studies with WAY-100635, a potent, selective and silent 5-HT<sub>1A</sub> receptor antagonist. *Behav Brain Res*. 73: 337-53, 1996.
- 16) Dunlop J, Zhang Y, Smith DL, Schechter LE: Characterization of 5-HT<sub>1A</sub> receptor functional coupling in cells expressing the human 5-HT<sub>1A</sub> receptor as assessed with the cytosensor microphysiometer. *J Pharmacol Toxicol Methods* 40: 47-55, 1998.
- 17) Assie MB, Koek W: Effects of 5-HT<sub>1A</sub> receptor antagonists on hippocampal 5-hydroxytryptamine levels: (S)-WAY-100135, but not WAY-100635, has partial agonist properties. *Eur J Pharmacol* 304: 15-21, 1996. (平成18. 5. 9受付, 18. 6.27受理)