

論文要旨

脳の成熟過程に注目した精神疾患の発症機序に関する研究

令和4年度

北海道医療大学大学院薬学研究科

進藤 つぐみ

背景

うつ病は自殺や就業・就学不能の主要な原因であり、厚生労働省の試算ではうつ病による社会的損失は年間 3.1 兆円に上る。注意欠如・多動症 (AD/HD, attention-deficit/hyperactivity disorder) は幼少期に発症する精神疾患であり、成人後のうつ病発症リスクが高いことが報告されている。また、虐待など幼少期に強いストレスを経験した人も、成人後のうつ病発症リスクが高いことが知られている。本研究では、AD/HD モデルおよび幼若期ストレスモデルを用い、動物実験により、幼少期に由来するうつ病の発症危険因子について検討した。

AD/HD モデル動物を用いた脳内 D-serine 代謝の解析

目的: SHRSP/Eso (脳卒中易発症ラット) は、多動など AD/HD 類似の行動を示し、AD/HD 治療薬で異常行動が改善することから、AD/HD のモデル動物と考えられる。これまでの研究で、SHRSP/Eso において脳内グルタミン酸 NMDA 受容体の機能低下が認められた。そこで、SHRSP/Eso ラットの脳内で、NMDA 受容体の内因性アロステリックリガンドである D-serine、L-serine および glycine の含有量と代謝酵素について調べた。

方法: SHRSP/Eso および遺伝的対照群である WKY/Ezo の内側前頭前野 (medial prefrontal cortex, mPFC) および海馬 (hippocampus, HIP) におけるアミノ酸含量を HPLC で定量した。また L-serine と D-serine を相互変換する酵素である serine racemase、および D-serine の代謝酵素である D-amino acid oxidase (DAAO) の発現量を Western blotting 法で定量した。さらに DAAO 阻害薬を脳内に局所投与し、AD/HD 様症状に対する効果を行動薬理学的試験の一つである Y-maze 試験により解析した。

結果: SHRSP/Eso の mPFC において D-serine 量が低値を示し、また

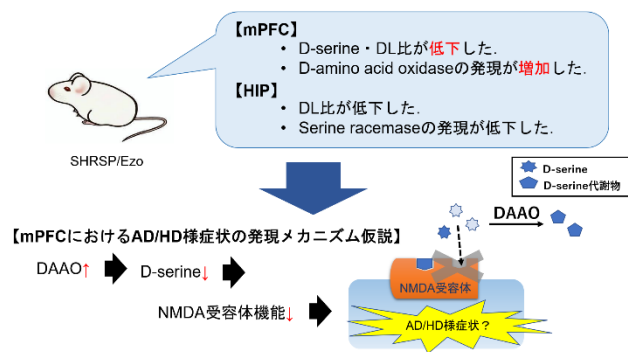


図 1. AD/HD モデル動物の mPFC における D-serine 代謝の異常

DAAO の発現量が増加していた。SHRSP/Ezo の mPFC へ DAAO 阻害薬を局所投与したところ、DL 比 (D-Serine/D-serine+L-Serine) は回復し、低値を示していた Y-maze 試験の自発的交替行動率 (認知機能の指標) も WKY/Ezo と同程度まで回復した。

考察: DAAO の発現増加による D-serine の低下が NMDA 受容体の機能を障害することで、AD/HD 様症状を引き起こしているという、メカニズムの仮説を支持する結果となった。さらに DAAO 阻害薬が AD/HD 治療薬となり得る可能性を示唆する結果となった。

幼若期ストレスを負荷したうつ病モデル動物の成長後海馬における脳内分子の解析

目的: これまでの研究で、生後 3 週齢時に足蹠電撃ストレスを負荷されたラットは成長後にうつ様行動を示すことが判明している。ラットに足蹠電撃ストレスを負荷した直後 (生後 3 週齢) および成長後 (生後 10 週齢) に、海馬 (HIP)、内側前頭前野 (mPFC) および扁桃体 (amygdala, AMY) における分子変化を解析し、うつ病の病態解明につながる因子を追究した。

方法: 生後 3 週齢の雄性 Wistar/ST ラットに足蹠電撃ストレスを 5 日間連続で負荷して、うつ病モデル動物 (3wFS) を作製した。ストレス直後および 10 週齢時にラットの HIP をサンプリングし、RNA を抽出してマイクロアレイ解析を行った。また、10 週齢時の段階で、うつ様行動を評価するために強制水泳試験 (forced swim test: FST) を実施した。さらに HIP、mPFC および AMY における細胞の全分画よりタンパク質を抽出した。これを用いて、近年、うつ病発症に関連があるとされている Akt-mTOR/GSK-3 β 系シグナルの変化を Western blotting 法にて解析した。

結果: mRNA のマイクロアレイ解析では、10 週齢時のラットは対照群に比較して低値 ($-1.5 < \text{fold-change}$) を示す遺伝子が 24 個、高値 ($\text{fold-change} < 1.5$) を示す遺伝子が 14 個、ストレス直後ラットでは低値 ($-1.5 < \text{fold-change}$) を示す遺伝子が 20 個、高値 ($\text{fold-change} < 1.5$) を示す遺伝子が 7 個検出された。さらに Western blotting 法による解析では、10 週齢時のラットは mTORC2 のリン酸化が亢進し、GSK-3 β のリン酸化が抑制されていた。しかしストレス直後ラットではいずれのタンパク質においても有意な差はみられなかった。

考察: 本研究で用いたモデル動物のうつ様行動の表出には、Akt-mTOR/GSK-3 β 系シグナルの変化が関与していることが示唆された。

また、マイクロアレイ解析の結果から、未知の因子が関与していることが考えられる。さらに、成長後のモデル動物で認められる脳内異常が幼若期のストレス直後では生じていないことから、発達に伴う新たな異常の出現によって成長後のうつ様行動が引き起こされることが示唆された。

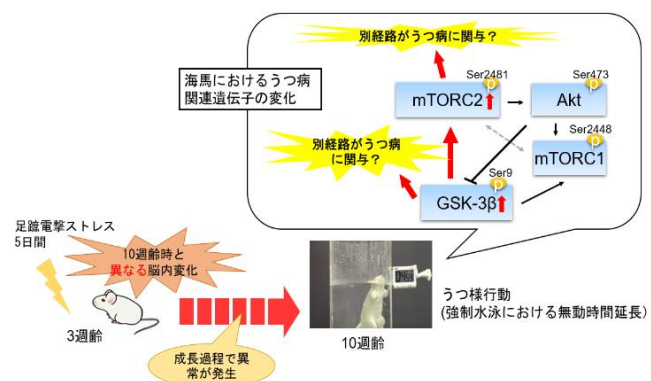


図 2. うつ病モデルの海馬におけるうつ病関連分子の変化