

学 位 論 文 要 旨

情動ストレス応答における海馬シナプス可塑性と

セロトニン作動性神経系の性差に関する研究

平成 25 年度

北海道医療大学大学院薬学研究科

井上 純孝

【背景および目的】

うつ病や不安障害などストレスに関連する精神疾患の治療には、serotonin (5-hydroxytryptamine: 5-HT) 神経系を標的とした薬物が多く使用されている。海馬は空間認知や周辺環境などの“Context”に依存する記憶に関わっていることが知られており、海馬CA1領域におけるシナプスの可塑的变化である長期増強 (Long-term potentiation: LTP) は、記憶・学習の電気生理学的基盤とされている。また、海馬におけるLTP形成は情動ストレスによって抑制されること¹⁾、心的外傷後ストレス障害には海馬シナプス可塑性を基盤とする恐怖記憶制御機構の変容に関わっていることが報告されている。一方、正中縫線核 (Median raphe nucleus: MRN) は海馬へ投射する5-HT神経の主要な起始核であり、情動ストレス応答における性差に関わる重要な脳部位である。さらに、情動調節には5-HT_{1A}受容体が関与していることが知られており、実際、5-HT_{1A}受容体partial agonistであるTandospironeは抗不安薬として広く用いられている。

ストレスに起因する精神疾患の罹患率には性差が存在する。例えば、女性のうつ病の発症率は、男性の約2倍と言われている。さらに、PET等を用いた臨床研究およびげっ歯類を用いた動物実験から、5-HT合成能や5-HT_{1A}受容体の発現、5-HTトランスポーターへの5-HT結合能に性差が存在することが報告されている。このように、ヒトとげっ歯類の間には情動ストレス応答に関わる5-HT神経系に性差が存在するという共通点がある。しかし、そのメカニズムを海馬シナプス可塑性との関連性からみた報告はない。

本研究は、情動ストレス応答における性差について、海馬シナプス可塑性におけるMRN-海馬5-HT神経系、特に5-HT_{1A}受容体の調節的役割という視点から、多角的に究明することを目的とした。

【方法】

雄性 (Male) および雌性 (Female) Wistar-STラット(11-14週齢)を用いた。また、5-HT神経擾乱ラットとして、Maleに5,7-dihydroxytryptamine (5,7-DHT; 200 µg/rat) を側脳室内に投与して5-HT神経を化学的に破壊した群およびMRNを電氣的に破壊した群を作成し、2週間後に実験に供した。さらに、estrogenの影響を検討するために、生後3あるいは8週齢時に卵巣摘出手術 (Ovariectomy: OVX) を施行したOVX群を作成した。不安水準は、高架式十字迷路 (Elevated plus maze: EPM) 試験および文脈的恐怖条件付け (Contextual fear conditioning: CFC) 試験を用いて行動学的に評価した。海馬CA1領域における細胞外5-HT濃度に対するCFCの影響を脳内微小透析法 (*in vivo* microdialysis) にて測定した。海馬およびMRNの5-HT組織量をHPLC-ECDを用いて測定し、さらにMRNの5-HT陽性細胞数をDAB染色法にて計測した。覚醒下または麻酔下にて海馬CA1領域の誘発集合電位を測定し、CFC, MRN電気刺激 (100, 300 µA), さらに責任受容体を明らかにするために5-HT_{1A}受容体partial agonistであ

るTandospirone (10 mg/kg, i.p.), selective agonistである8-OH DPAT (0.3, 3 mg/kg, i.p.) および5-HT_{1A}受容体antagonistであるWAY100135 (3 mg/kg, i.p.) による影響を検討した。

【結果】

1. 行動学的検討

- ① Femaleでは, Maleと比較して不安水準の低下, すなわちCFCにおけるFreezing率の低下およびEPMにおけるOpen armへの進入率の増加が認められた。
- ② Maleでは, 5,7-DHT側脳室内投与およびMRNの電氣的破壊による5-HT神経擾乱によって, 対照群と比較して不安水準の有意な低下が認められた。
- ③ Femaleでは, 生後3週齢時OVXによって, CFCにおけるFreezing率の上昇傾向が認められたが, 生後8週齢時OVXでは対照群との間に差は認められなかった。

2. 神経化学的および免疫組織学的検討

- ① Maleでは, CFCによって海馬CA1領域における細胞外5-HT濃度の増加が認められたが, Femaleでは認められなかった。
- ② MRNの5-HT陽性細胞数は, FemaleではMaleに比較して有意に高値を示した。
- ③ 海馬およびMRNの5-HT組織量は, FemaleではMaleに比較して有意に高値を示した。

3. 電気生理学的検討

- ① Maleでは, 覚醒下におけるLTP形成はCFCによって抑制されたが, Femaleでは抑制が認められなかった。
- ② Maleでは, 麻酔下におけるLTP形成はMRN刺激および5-HT_{1A}受容体刺激(Tandospironeおよび8-OH DPAT投与)によって抑制されたが, Femaleではこのような抑制は認められなかった。

【考察・結語】

情動ストレスに対する行動および海馬シナプス応答における性差について, MRN-海馬5-HT神経系の5-HT_{1A}受容体による調節的役割に着目して追究した。Maleでは, CFCに対する行動応答であるFreezingは, 海馬における5-HT放出とLTP形成の抑制というシナプス応答の変化を伴っていたのに対して, Femaleではこのような変化は認められなかった。Maleでは, MRNの破壊によって行動応答が障害されること, MRN刺激および5-HT_{1A}受容体刺激によってLTP形成が抑制されることから, 情動ストレス応答でみられた性差にはMRN-海馬における5-HT_{1A}受容体を含む5-HT神経系が関与してことが明らかとなった。一方, 海馬およびMRNの5-HT陽性細胞ならびに5-HT組織量はFemaleでは, より高値を示した。その機能的意味は不明であるが, ストレス負荷時の情動調節におけるMRNや海馬5-HT_{1A}受容体機能変化あるいは扁桃体や大脳皮質のGABA神経系^{2,3)}を含めた情動神経回路における性差を反映している可能性が考えられる。

5-HT_{1A}受容体発現および機能はestrogenの調節下にあることから, OVXによる影響を検討した結果, 3週齢時のOVXによってCFCに対する行動応答の変容が認められた。5-HT神経系の発達臨界期である2~3週齢のラットにストレスを与えると成熟期の情動応答が変容するという当教室における先行研究⁴⁾, および8週齢時のOVXによる影響は認められなかったという本実験結果を考え合わせると, 5-HT神経の発達を含めた情動調節機構にestrogenが関与している可能性は否定出来ない。

以上より, MRN-海馬5-HT神経系のシナプス可塑性調節における5-HT_{1A}受容体機構が, 情動ストレス応答でみられた性差に関連している可能性が推測された。今後, 情動調節機構を性差という視点からさらに追究することによって, ストレス性精神疾患の病因を明らかにするだけでなく新たな治療戦略の構築につながることを期待される。

【文献】

- 1) Hirata R., Matsumoto M., Judo C., Yamaguchi T., Izumi T., et al., SYNAPSE., 63, 549-556 (2009).
- 2) Inoue S., Kamiyama H., Matsumoto M., Yanagawa Y., Hiraide S., et al., J Pharmacol Sci., 123, 267-78 (2013).
- 3) Kimura S., Saito Y., Ohashi A., Inoue S., Matsumoto M., et al., Biogenic Amines., 25, 231-241 (2011).
- 4) Ishikawa S., Saito Y., Yanagawa Y., Otani S., Hiraide S., et al., Eur J Neurosci., 35, 135-145 (2012).