

Title	新規エンカウンター試験法を用いた精神疾患モデルマウスの精神的ストレス応答性に関する研究
Author(s)	田中, 辰典
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/61686
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

論文内容の要旨

氏名 (田中 辰典)

論文題名

新規エンカウンター試験法を用いた精神疾患モデルマウスの精神的ストレス応答性に関する研究

論文内容の要旨

げっ歯類を離乳後から長期間、社会的に隔離した環境下で飼育すると、成熟後に攻撃行動、不安様行動、うつ様行動、社会性行動障害等の異常行動を示す。このような長期隔離飼育動物は、精神疾患モデル動物として薬効評価に広く利用されているが、異常行動を誘発する分子機序の詳細は不明である。当研究室では長期隔離飼育マウスの示す攻撃行動や社会性行動障害が、新奇マウスとの対峙といった精神的な刺激により誘発されることに着目し、金網越しに新奇マウスを対峙(エンカウンター)させることで物理的な刺激を排除し、精神的な刺激の影響のみを評価する新しい解析法として「エンカウンター試験法」を構築してきた。これまでに、長期隔離飼育マウスがエンカウンター試験において多動を示すこと、この異常行動の発現には前頭前野のドーパミン(DA)神経、セロトニン(5-HT)神経の活性化がトリガーとなっていることを見出している。本研究では、長期隔離飼育マウスの異常行動発現に関わる神経機構の解明を目指し、エンカウンター誘発多動における α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid (AMPA)型グルタミン酸受容体の関与について検討を行った。またエンカウンター試験法による他の精神疾患モデル動物の病態メカニズム解析への応用を目的に、薬物依存マウスにおける精神的ストレス応答性を解析し、その異常行動に伴う神経化学的な変化について検討した。

グルタミン酸受容体には代謝型とイオンチャネル型が存在するが、長期隔離飼育マウスの異常行動の発現あるいは改善における前者の役割は示されているが後者の役割については不明である。本研究ではイオンチャネル型グルタミン酸受容体の一つであるAMPA受容体に着目し、長期隔離飼育マウスの精神的ストレスによる異常行動発現に対するAMPA受容体拮抗薬NBQXの作用について検討を行った。その結果、長期隔離飼育マウスが示すエンカウンター誘発多動や攻撃行動に対してNBQXは抑制作用を示した。また、NBQXは長期隔離飼育マウスのエンカウンターによる前頭前野におけるDAおよび5-HT遊離の増加を有意に抑制した。さらに、長期隔離飼育マウスでは前頭前野において、AMPA受容体構成サブユニットのタンパク質発現やリン酸化が増加しており、前頭前野のAMPA受容体応答性が亢進していることを見出した。

覚せい剤やコカインなどの薬物依存患者では、薬物の継続的な摂取を中断した後も、抑うつ気分やストレスをきっかけとして不安障害などが生じることが知られている。げっ歯類においても薬物依存モデルのマウス(以下、薬物依存マウス)は、休薬時において心理的なストレスにより不安様行動を示すことが報告されている。このことから、薬物依存マウスにおいても精神的ストレスにより異常行動を示す可能性が考えられる。そこで、エンカウンター試験法を

薬物依存マウスに応用し、精神的ストレス応答性の解析を行った。薬物依存マウスは、メタンフェタミン(METH)を慢性投与し、行動感作を形成したマウスを用いた。METH行動感作マウスは、休薬時においてエンカウンターにより金網付近での多動を示した。エンカウンターにより誘発される脳内神経活動の変化を解析したところ、エンカウンターによりMETH行動感作マウスではコントロールマウスと比べて前頭前野、腹側被蓋野、背側縫線核が強く活性化された。腹側被蓋野と背側縫線核は、それぞれDAと5-HT神経の起始核であり、各々の神経を前頭前野に投射している。そこで、エンカウンターによる前頭前野モノアミン遊離変化を検討したところ、METH行動感作マウスではエンカウンターにより5-HT、DA遊離量の有意な増加が認められた。さらに、5-HTおよびDA神経毒を前頭前野に局所投与し、各神経の薬理的な破壊がエンカウンター誘発多動の発現に与える影響について検討した。5-HT神経毒あるいはDA神経毒いずれの処置においても、エンカウンターによるMETH行動感作マウスの多動が有意に抑制された。次に、エンカウンターによる多動に対する各種5-HTおよびDA受容体拮抗薬の作用について検討を行った。METH行動感作マウスにおけるエンカウンター誘発多動は5-HT_{2A}受容体拮抗薬およびD₁受容体拮抗薬により抑制された。さらに、エンカウンターによるMETH行動感作マウスの多動のプロファイルを明らかにするため、抗不安薬や選択的5-HT再取り込み阻害薬(SSRI)に対する反応性について検討したところ、両薬物によりエンカウンターによる多動が抑制された。なお、SSRIによる多動抑制作用には5-HT₃受容体の活性化が関与していた。

本研究において、長期隔離飼育マウスの前頭前野におけるAMPA受容体の発現増加と機能亢進がみられ、精神的ストレスによる異常行動と前頭前野モノアミン遊離変化にAMPA受容体が関与していることが示された。さらに、METH行動感作マウスでは、休薬時にエンカウンターにより多動が起これ、この異常行動の発現は前頭前野の5-HTあるいはDA神経伝達の異常が引き金となる可能性を見出した。また受容体レベルでは、エンカウンターによる多動に、5-HT_{2A}受容体やドパミンD₁受容体の活性化が関与していることが明らかとなった。エンカウンターによる多動の意義については、本行動が抗不安薬やSSRIにより抑制されたことから、不安やうつ様状態と関連する行動異常であることが示唆された。本研究の成果は、エンカウンター試験法を用いた精神的ストレスの応答性の解析が、長期隔離飼育マウスのみならず、METH依存マウスにおける異常行動の発現やその神経化学的なメカニズムの解明にも有用であることを示唆している。エンカウンター試験は、従来検討されていなかった動物モデルでの精神的ストレスの影響を解析できるものであり、精神疾患をはじめとするストレス性疾患の病態解明や新たな薬物治療法の開発にトランスレーショナルな視点を付加できる新しい方法論として発展することを期待したい。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (田 中 辰 典)	
	(職) 氏 名
論文審査担当者	主 査 教授 橋本 均
	副 査 教授 八木 清仁
	副 査 教授 田熊 一敬

論文審査の結果の要旨

「新規エンカウンター試験法を用いた精神疾患モデルマウスの精神的ストレス応答性に関する研究」と題する論文において学位申請者は、マウスに対して精神的ストレスを負荷し、その行動や脳内の神経化学伝達物質遊離の変化を同時に解析可能な「エンカウンター試験」の実験システムを用いて、精神疾患モデル動物が異常行動を示す際の引き金となる精神的ストレスの役割を、行動薬理学的および神経化学的に明らかにした。エンカウンターとは、金網越しに新奇マウスを対峙させることで、物理的なストレスを伴わず、心理社会的なストレスを負荷するものであり、この試験法は申請者が所属する研究室で構築され、申請者もそれに携わっている。本学位論文の研究は、精神疾患をはじめとするストレス性疾患の病態解明や新たな薬物療法の開発につながるものであり、その意味において神経薬理学的に興味深い研究である。

以下、本学位論文で発表された研究成果とその評価を示す。

生後発育期の環境要因に起因し、統合失調症やうつ・不安障害などの精神疾患モデル動物として利用される長期隔離飼育マウスは、エンカウンターにより多動を示し、この異常行動の発現には前頭前野のドーパミン(DA)神経とセロトニン(5-HT)神経の活性化が関与することが明らかにされている。本学位論文においては、長期隔離飼育マウスの異常行動発現に関わる神経機構の解明を目指し、エンカウンター誘発多動における α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid (AMPA)型グルタミン酸受容体の関与について検討を行った。さらに、エンカウンター試験法を、他の精神疾患モデル動物の病態メカニズム解析に応用することを目的とし、薬物依存モデル動物の一つであるメタンフェタミン(METH)行動感作マウスを用いて、精神的ストレスに対する応答性を行動薬理学的および神経化学的に解析した。これらの検討により、以下のことを明らかにした。

1. 長期隔離飼育マウスでは、前頭前野においてAMPA受容体の発現増加と機能亢進がみられ、エンカウンターによる多動と前頭前野モノアミン遊離変化にAMPA受容体の活性化が関与していた。
2. METH行動感作マウスは、METH慢性投与後の休薬時において、エンカウンターにより多動を示した。この異常行動の発現は、腹側被蓋野および背側縫線核の活性化による前頭前野のDAと5-HT神経伝達の異常が引き金となっている可能性を見出した。
3. D₁受容体拮抗薬および5-HT_{2A}受容体拮抗薬が、METH行動感作マウスのエンカウンターによる多動を抑制することを見出した。
4. METH行動感作マウスが示すエンカウンターによる多動が、抗不安薬や抗うつ薬により抑制されることを明らかにし、エンカウンターによる多動が、薬物依存時の不安・うつ様状態と関連する行動変化であることを示唆した。

以上のように、エンカウンター試験法を用いた解析から、長期隔離飼育マウスやMETH行動感作マウスといった精神疾患モデル動物における、精神的ストレスによる異常行動の発現やそのメカニズムの一端を明らかにした。本研究の成果から、エンカウンター試験が、従来検討されていなかった精神的ストレスの影響を解析できる新しい方法論として発展していくことが期待されるものであり、本論文は、博士(薬学)の学位論文に値するものと認める。

