

Title	エンカウンター反応による新規意欲評価試験法の開発と意欲低下モデルマウスに関する神経薬理学的研究
Author(s)	長谷部, 茂
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/69674
DOI	
rights	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

論文内容の要旨

氏名 (長谷部 茂)

論文題名

エンカウンター反応による新規意欲評価試験法の開発と
意欲低下モデルマウスに関する神経薬理学的研究

論文内容の要旨

精神疾患の研究においてモデル動物の開発は、病態解明そして治療薬開発に大きく貢献している。例えば、ラットあるいはマウスを逃避不可能なストレス環境下においた際の行動変化を指標とする強制水泳試験法や尾懸垂試験法は、抗うつ薬のヒトでの効果を動物レベルで予測することを可能とし、うつ病態をげっ歯類で解析する基礎研究や新規創薬標的分子の探索研究に利用されてきた。しかしながら、強いストレス負荷を伴った試験であり、実験動物の繰り返し使用ができないことから多くの実験動物が必要となっている。また、よりヒトへトランスレータブルな指標として、うつ病を含む多くの精神疾患においてみられる興味や喜びの感覚の減少という無快感(anhedonia: アンヘドニア)が挙げられ、この行動を評価する試験法としてショ糖嗜好性試験や条件付場所嗜好性試験などが開発されている。しかしこれらの方法は、記憶学習に依存しており非常に厳密な条件設定が要求されることや、試験前の十分なトレーニングが必要である。またショ糖への嗜好性がみられないマウスの系統が存在する。以上のような背景から、うつ病をはじめとする精神疾患の病態研究や創薬に向けて、動物実験の科学性と倫理性の維持・向上、そして長期実験に伴うスループットの低下や再現性の問題などの改善に資する、低ストレスかつ簡便な新しい意欲評価法の開発が望まれる。

これまでに、マウス間の物理的な接触を排除して精神的な遭遇刺激(エンカウンター刺激)の作用を解析する新しい手法「エンカウンター試験法」が考案され、精神疾患モデル動物の一つとして利用される長期隔離飼育マウスの異常行動発現のトリガーとなる脳内神経基盤の一端が明らかにされている。エンカウンター刺激は非侵襲的な社会性刺激であることから低ストレスで、マウスの繰り返し使用が可能である。またこの試験法は、新奇マウスに対する向社会性といった生得的な行動に基づいており、短時間での測定を実現している。本研究では、上記の問題を解消する新たな意欲評価モデルの構築を目指して、エンカウンター反応を基盤としたマウスの行動学的解析手法について検討した。

出生後早期からげっ歯動物を社会的に孤立した環境下で長期間飼育すると、多動、攻撃行動、社会性行動障害、認知機能障害、うつ様行動や不安様行動など様々な異常行動が認められる。これらの中で、攻撃行動や社会性行動障害は新奇マウスとの対峙によって、またうつ様行動や不安様行動は試験の環境によって誘発されることなどから、精神的なストレス刺激が異常行動発現のトリガーとなることを示している。長期隔離飼育マウスはエンカウンター刺激により多動を示し、この反応は既存抗うつ薬(三環系抗うつ薬デシプラミン、セロトニン(5-HT)再取り込み阻害薬(SSRI)フルボキサミン、5-HT・ノルアドレナリン再取り込み阻害薬ベンラファキシン)により抑制された。また抗うつ作用を有することが報告されているグルココルチコイド受容体アンタゴニストなどによってもエンカウンター誘発多動が抑制された。デシプラミン、フルボキサミン、ベンラファキシンによる多動抑制作用には、 α_2 アドレナリン受容体や5-HT₄

受容体が関与しており、これら受容体のアゴニストはエンカウンターによる隔離飼育マウスの多動を抑制した。エンカウンター試験法における薬物応答性は、強制水泳試験など既存のうつ様行動評価系や抗うつ薬スクリーニング法での結果と一致しており、本試験が低ストレスかつ同一マウスで反復使用が可能な新しい抗うつ薬評価系として利用できる可能性が考えられた。

次に、アンヘドニアを指標とする新たな意欲行動評価系「Female encounter試験」の構築について検討した。3チャンバー型の試験ケージを作製し、両側に金網カゴを設置して、試験マウスが金網越しに2匹のintruderマウスと相互作用できる実験環境を設計した。メスマウスとオスマウスを同時にintruderとして導入したところ、オスの試験マウスはメスマウスのいる区画に長時間滞在し、メス選択性行動を示した。このメス選択性行動は、検討したすべての近交系・非近交系のマウスにおいて認められた。またオスの試験マウスの週齢依存的にみられ、睾丸摘出により消失したことから、アンドロゲンの関与が示唆された。一方メス選択性行動は、メスのintruderマウスの性周期の影響を受けなかった。このFemale encounter試験において、うつ様モデルマウスとして知られる長期隔離飼育マウスやリポポリサッカライド投与マウスはメス選択性行動の低下を示し、また抗うつ薬によりメス選択性行動の低下が改善された。メスのintruderマウスとのエンカウンターは、オスの試験マウスの側坐核shellを活性化し、ドパミン受容体アンタゴニストは側坐核shellの活性化とメス選択性行動を抑制した。以上の結果から、Female encounter試験が簡便にマウスの意欲を評価できる新しい手法となること、メス選択性行動には報酬探索行動や快楽行動の基盤となるドパミン神経系が関与しており、うつ様モデルのアンヘドニアや抗うつ薬の効果を解析する有用な指標である可能性が示された。

フルボキサミンは、5-HTトランスポーター阻害作用に加え、シグマ(σ)₁受容体アゴニストとして作用するといった特徴的な薬理作用プロファイルを有し、このことが他のSSRIと異なる臨床治療効果に寄与すると考えられている。フルボキサミンは、精神疾患病態時にみられるような生体の神経ステロイド低下状態において、前頭葉ドパミン遊離を定常状態よりも増強することが知られているが、この作用に、神経ステロイド低下によるGABA_A受容体機能の低下と5-HT_{1A}自己受容体の活性化が関与することを見出した。神経ステロイド低下時やGABA_A受容体アンタゴニストであるピクロトキシン投与時ではFemale encounter試験においてメス選択性行動の低下が認められ、この低下はフルボキサミンにより改善されたが、 σ ₁受容体に作用しない抗うつ薬では改善されなかった。フルボキサミンの改善効果には5-HT_{1A}受容体と σ ₁受容体の機能的相互作用による前頭葉ドパミン遊離の増強が関わっており、ドパミン受容体アンタゴニストによりメス選択性行動低下の改善が抑制された。以上の結果から、GABA_A受容体機能障害がアンヘドニアにつながる可能性があること、前頭葉ドパミン調節機構が治療ターゲットになり得ることが示唆された。

以上、本研究では、精神的なストレス刺激によるマウス間相互作用を解析するエンカウンター試験法を用い、長期隔離飼育マウスでのエンカウンター誘発多動の新しい抗うつ薬評価系としての有用性を明らかにした。そして、エンカウンター試験を発展させた新しい意欲評価試験(Female encounter試験)を開発した。さらに、この試験を用い5-HT_{1A}受容体と σ ₁受容体の相互作用による前頭葉ドパミン遊離の治療的意義を明らかにした。異性に対する興味の低下はうつ病あるいはうつ状態の特徴的な症状の一つであり、性的指向をエンカウンター試験法に応用したFemale encounter試験は、うつ病の前臨床研究の発展や創薬に貢献することが期待される。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (長 谷 部 茂)	
	(職) 氏 名
論文審査担当者	主 査 教授 橋下 均
	副 査 教授 八木 清仁
	副 査 教授 上島 悦子

論文審査の結果の要旨

「エンカウンター反応による新規意欲評価試験法の開発と意欲低下モデルマウスに関する神経薬理学的研究」と題する論文において学位申請者は、マウスの精神的ストレス刺激による個体間相互作用を解析するエンカウンター試験法を用いて、長期隔離飼育マウスに認められるエンカウンター誘発多動の新しい抗うつ薬評価系としての有用性を明らかにした。そして、エンカウンター試験を発展させた新しい意欲評価試験(メス選択性試験, Female encounter test)を開発し、この試験を用いて、セロトニン1A (5-HT_{1A})受容体とシグマ1 (σ_1)受容体の相互作用による前頭葉ドパミン遊離の治療的意義を明らかにした。これらの研究は、うつ病をはじめとするストレス性疾患に対する治療薬の開発、および病態解明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。

精神疾患の病態研究および治療薬の開発において、モデル動物の開発は必要不可欠である。基礎研究において、げっ歯動物を用いた様々な行動評価法が開発されているが、いずれもストレスの負荷や十分なトレーニングを必要とすることから、繰り返して試験が行えないことや評価に長時間を要することなどが課題となっている。本学位論文においては、これらの問題を軽減する新たな意欲評価モデルの構築を目指して、エンカウンター反応を用いたマウスの行動学的解析手法について検討し、以下のことを明らかにした。

1. 長期隔離飼育マウスのエンカウンター誘発多動は、抗うつ薬に高い感受性を示し、その作用機序に5-HT₄受容体およびアドレナリン α_2 受容体の関与を示唆する結果を得た。本試験が低ストレスかつ同一マウスで反復試験が可能な新しい抗うつ薬評価系として利用できる可能性が示された。
2. 性的指向をエンカウンター試験法に応用したメス選択性試験を構築した。この試験においてオスマウスのメス選択性行動を検出し、うつ様モデル動物のアンヘドニアを解析できる実験系であることを示した。また、メスマウスでの意欲評価も可能とした。同一マウスを用いた繰り返し試験が可能であること、短時間に評価可能であることから、意欲評価系として有用であると考えられた。
3. GABA_A受容体機能低下が意欲低下を誘発することを示し、その行動が5-HT_{1A}および σ_1 受容体活性化による前頭葉ドパミン遊離の増強により改善することを見出した。これらより、GABA_A受容体の機能障害がアンヘドニアにつながる可能性があることが示され、この知見は前頭葉ドパミン調節機構を治療ターゲットとする創薬研究に貢献するものである。

以上のように、本研究で作成したエンカウンター反応を用いた評価法は、これまでの問題点を軽減しうる新規評価モデルとして展開していくことが期待されるものであり、うつ病に関する基礎研究のさらなる発展や創薬に貢献するものである。また本研究は、GABA_A受容体の機能阻害による意欲低下とその改善に関わる機序の一端を明らかにしており、この成果は新しい治療標的や患者の層別化に繋がるものが期待される。以上の通り、本論文は博士(薬科学)の学位論文に値するものと認める。