The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	脳海馬領域損傷モデルを用いた抑うつ症状発現に関する基礎研究
Author(s)	佐藤, 桂子
Citation	大阪大学, 2019, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/72229
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（　佐藤　桂子　）	
論文題名	脳海馬領域損傷モデルを用いた抑うつ症状発現に関する基礎研究

論文内容の要旨

【目的】 抑うつ症状は，うつ病のみならず，癌，糖尿病，顎関節症など様々な疾患において併発が認められる症状である.したがって，抑うつ症状の改善により多くの患者のQOL向上が期待されるが，その病態発現機序は未だ不明であり，より効果的な治療法へと繋がる新たな薬物標的分子の解明が待ち望まれている．一方，脳海馬領域は，古くより学習・記憶機能を司る領域として知られているが, 近年, うつ病や統合失調症などの精神疾患患者における萎縮や機能障害 (Maller et al., 2012; DeCarolis et al., 2010) が報告され，情動行動においても重要な役割をもつことが示唆されている．有機スズ化合物であるトリメチルスズ(TMT) は，ヒトおよび齧歯類で高濃度の曝露により大脳辺縁系の神経機能障害を惹起すること (Besser et al., 1987; Chang et al., 1983)，とくに齧歯類においては海馬歯状回 (DG) の顆粒細胞を特異的に傷害することが知られている (Geloso et al., 2011)．また，マウスにおいて，TMT誘発DG傷害が曝露後の数日間をピークとして検出され，その後の神経新生によって回復に向かうこと (Ogita, et al., 2005; Harry et al., 2004)，ならびにTMT誘発DG傷害に伴って記憶障害が発現することが示されている (Ogita, et al., 2005). これらの知見より，TMT曝露マウスは抑うつ症状の病態発現機序を海馬領域の“損傷–修復”という観点から解明しうる有用なモデルと考えられる．そこで本研究では，抑うつ症状発現における海馬領域の関与を追究する目的で，まず，TMT曝露マウスの脳海馬領域での神経細胞およびアストログリア細胞の量的変化を免疫組織学的手法により解析し，つぎに，抑うつ症状様の情動行動変化を行動学的手法により評価した．さらに，解析過程で見出したTMT曝露によるアストログリア細胞数の増大 (アストログリオーシス) に着目し，TMT曝露マウスの抑うつ様行動に対するアストロサイト活性化抑制薬であるアルンド酸 (ONO-2506)(Mori et al., 2004; Kato et al., 2003) の効果について検討を加えた.

【方法】 実験にはICR系雄性マウス (5週齢，日本エスエルシー) を購入し用いた.TMT (Sigma-Aldrich) は，2.5 mg/kgの用量で6週齢時に腹腔内投与をした．対照群には生理食塩水を投与した．免疫組織学的解析は，薬物投与3日~4週間後にホルマリン固定した脳組織より作製した超薄切片を用いて行った．海馬領域を含む切片中の成熟神経細胞，神経幹細胞およびアストログリア細胞をそれぞれ抗NeuN，抗Nestinおよび抗GFAP抗体を用いて可視化し，単位面積あたりの各細胞数を計数した．行動解析は，TMT投与2~4週間後に実施し，抑うつ様行動は強制水泳試験により，社会性行動はresident-intruder相互作用試験により評価した．また，アルンド酸 [ONO 2506, Tocris Bioscience; R-(–)-arundic acid, Toronto Research Chemicals] は10~30 mg/kgの用量でTMT投与の30分前に腹腔内投与した.

【結果】 TMTはDGにおいて，投与2~14日後にかけてNeuN陽性細胞数を減少させ，投与2~3日後にnestin陽性細胞数の増加と投与3~14日後にGFAP陽性細胞数の増加を引き起こした．また，TMT

群は対照群に比べて投与14日後に強制水泳試験における無動時間の増大とresident-intruder相互作用試験における匂い嗅ぎ行動の減少を示した．TMT投与による組織化学的および抑うつ様行動発現の変化はいずれも，TMT投与28日目には消失していた．さらに，アルンド酸 (30 mg/kg) の前処置が, TMT投与による抑うつ様行動発現に対して抑制傾向を示すことを認めた (P = 0.0532).

【考察】 本研究では，まず免疫組織学的解析により，TMTがDGで投与2~14日後にかけて成熟神経細胞数を減少させ，投与2~3日後に一過的に神経幹細胞数を増加させること，すなわち，既知の報告 (Ogita,et al., 2005) と同様にTMT曝露後の数日間をピークとするDG傷害惹起されていることを確認した．また，本研究ではこれまであまり注目されていなかったアストログリア細胞を解析対象とし，投与3~14日後に本細胞数が増加していることを見いだした．成熟神経細胞数とアストログリア細胞の変化がTMT投与28日目に消失していたことを合わせて, 今回用いたTMT曝露マウスは，少なくとも投与14日目まではアストログリオーシスを伴うDG傷害が生じ，投与28日目までに回復へと至る経時過程を辿る海馬“損傷–修復”モデルであることが示された．つぎに，本研究では行動解析により，TMT投与14日後に抑うつ様行動と社会性行動障害を見いだし，TMT投与28日目にこれらが消失することを認めた．さらに本研究では，アストロサイト活性化抑制薬を用いた薬理学的検討により，TMT曝露マウスで認められる抑うつ様行動が軽減されることを見いだした．以上の成績は，海馬損傷–修復に同調して抑うつ様行動が発現されることを示すとともに，抑うつ様行動の発現にアストログリオーシスが重要な役割を持つことを示唆する．

【参考文献】

Besser R, et al., Neurology. 1987; 37: 945-950.
Chang LW, et al., Neurobehav Toxicol Teratol. 1983; 5: 337-350.
DeCarolis NA, et al., Neuropharmacology. 2010; 58: 884-893.
Geloso MC, et al., Neurochem Int. 2011; 58: 729-738.
Harry GJ, et al., Neurotox Res. 2004; 5: 623-627.
Kato H, et al., J Neurol Sci. 2003; 208: 9-15.
Maller JJ, et al., Hippocampus. 2012; 22: 9-16.
Mori T, et al., Neurochem Int. 2004; 45: 381-387.
Ogita K, et al., J Neurosci Res. 2005; 82: 609-621.

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（　佐藤　桂子　）			
論文審査担当者		（職）	氏　名
	主査	教授	田熊　一敞
	副査	教授	脇坂　聡
	副査	准教授	工藤　千穂
	副査	講師	古田　貴寛

論文審査の結果の要旨

近年，うつ病や統合失調症などの精神疾患患者において，脳海馬領域の萎縮や機能障害が報告され，情動行動における海馬領域の重要性が示唆されている．本研究は，有機スズ化合物であるトリメチルスズ (TMT) の特性である海馬領域選択的毒性に着目して，抑うつ症状など情動行動の発現における海馬領域の役割を追究したものである．

その結果，TMT 曝露マウスで投与 14 日後に抑うつ様行動と社会性行動障害が発現されることが認められ，これらがアストロサイトの増殖 (アストログリオーシス) と密接に関連する可能性が示された．

以上の研究成果は，抑うつ症状など情動行動の発現におけるアストログリオーシスの病態的役割を示唆するのみならず，アストロサイトを標的とする新たな抑うつ様症状の薬物治療の発展へと繋がるものと期待される．

よって，博士 (歯学) の学位論文として価値のあるものと認める．