

学位論文題名

セロトニン作動性神経による海馬シナプス伝達調節機構の解明

海馬 CA1 および CA3 領域における電気生理学的検討

学位論文内容の要旨

セロトニン (5-HT; 5-hydroxytryptamine) は中枢神経系において睡眠, 体温調節, 情動や記憶学習に重要な役割を担っている神経伝達物質である. 中枢 5-HT 作動性神経は縫線核を起始部とし, 脳内広範囲に投射している. 特に記憶に不可欠な部位である海馬に高密度に分布しており, 不安関連記憶にも関わっていることから, 不安障害の病態に深く関連していると考えられる. 実際, 臨床的にも 5-HT_{1A} 受容体作動薬を代表とする種々の 5-HT 系薬物が抗不安薬として応用されている. しかし, 5-HT 神経系がいかなる機序により不安障害に関与しているかについては未だに一定の見解は得られていない. 本研究は現在抗不安薬として注目されている選択的 5-HT 再取り込み阻害薬 (selective serotonin reuptake inhibitor; SSRI) に着目し, 電気生理学的手法を用いて 5-HT 作動性神経と不安との関連性について追究した. すなわち, 海馬 CA1 および CA3 領域のシナプス伝達効率とシナプス可塑性に及ぼす内因性 5-HT および関与する 5-HT 受容体を明らかにすることを具体的な目標とした.

実験動物は Wistar 系雄性ラットを使用した. 内因性 5-HT 濃度を増加させるために SSRI の一つである fluvoxamine を使用した. 脳内微小透析法により測定した海馬細胞外液中の 5-HT 濃度は, fluvoxamine (30 mg/kg, i.p.) により約 2.5 倍に増加した. 電気生理学の実験は 1% ハロタン麻酔下で海馬 CA1/Schaffer および CA3/Mossy fiber について検討した. シナプス伝達効率とシナプス可塑性の指標として, CA1 領域と CA3 領域の誘発集合電位 (population spike amplitude; PSA) および記憶学習の電気生理学的基盤と考えられる長期増強 (long-term potentiation; LTP) を計測した.

Fluvoxamine (30 mg/kg, i.p.) により CA1 ならびに CA3 領域の PSA は有意に増加した. CA1 における fluvoxamine の PSA の増加作用は 5-HT_{1A} 受容体拮抗薬 NAN 190 (0.5 mg/kg, i.p.) により有意に増強し, 5-HT₄ 拮抗薬 GR 113808 (20 µg/rat, i.c.v.) および 5-HT₇ 受容体拮抗薬 DR 4004 (10 µg/rat, i.c.v.) により有意に抑制された. 一方, CA3 における fluvoxamine の PSA の増加作用は NAN 190, DR 4004 により有意に抑制されたが, GR 113808 による影響は認められなかった. これらの結果から, CA1 領域の内因性 5-HT によるシナプス伝達機構には 5-HT_{1A} 受容体が抑制性に関与し, 5-HT₄, 5-HT₇ 受容体が促進性に調節していることが示唆された. また, CA3 領域の 5-HT によるシナプス伝達機構には 5-HT_{1A} および 5-HT₇ 受容体が促進性に関与していることが明らかになった. 5-HT₄ 受容体は fluvoxamine によるシナプス伝達機構には関与していないことが判明した. これらの結果

は外因性に投与した 5-HT 受容体作動薬によっても確認された。すなわち、CA1 の PSA は 5-HT_{1A} 受容体作動薬 tandospirone (10 mg/kg, i.p.) により抑制され、5-HT₄ 受容体作動薬 SC 53116 (1 および 10 µg/rat, i.c.v.) により促進された。CA3 領域では tandospirone により PSA は増加したが、SC 53116 による影響は見られなかった。次に内因性 5-HT のシナプス可塑性ならびに関与する 5-HT 受容体について検討した。CA1 領域では fluvoxamine (10mg および 30 mg/kg, i.p.) により LTP 生成は抑制された。一方、CA3 領域の LTP は fluvoxamine 投与により影響を受けなかった。CA1 における fluvoxamine (30 mg/kg, i.p.) による LTP 抑制作用は、NAN 190 (0.5 mg/kg, i.p.) により有意に拮抗された。しかしながら、GR 113808 (20 µg/rat, i.c.v.) および DR 4004 (10 µg/rat, i.c.v.) による影響は認められなかった。すなわち、CA1 領域における内因性 5-HT のシナプス可塑性抑制には、シナプス伝達機構を調節している 3 つの 5-HT 受容体の中で 5-HT_{1A} 受容体に関与していることが示された。これらの結果は 5-HT_{1A} 受容体作動薬 tandospirone (1 および 10 mg/kg, i.p.) 投与により CA1 領域では LTP は形成されなかった事実によって確かめられた。

以上の結果から、fluvoxamine による CA1 および CA3 領域のシナプス伝達効率促進作用には少なくとも 3 つの 5-HT 受容体—5-HT_{1A}, 5-HT₇、あるいは 5-HT₄ 受容体に関与していること、また、これらの受容体による調節機構は CA1, CA3 領域で異なっていることが明らかになった。さらに、fluvoxamine および tandospirone は CA3 の LTP には影響せず CA1 の LTP のみを抑制した。一方、ベンゾジアゼピン系抗不安薬の diazepam は CA1, CA3 の LTP をいずれも抑制した。Tandospirone と SSRI は diazepam にみられる健忘作用を持たないこと、さらに、CA3 は記憶の想起に重要な役割を担うことが指摘されている。したがって、CA3 領域における 5-HT 系抗不安薬と diazepam の LTP に対する効果の違いは、これらの抗不安薬の臨床面での相違を反映しているのかもしれない。一方、CA1 のシナプス可塑性はむしろ不安や恐怖などの情動ストレスとの関連性が推察される。5-HT 神経系はこのように異なった 5-HT 受容体を介し、CA1 および CA3 領域におけるシナプス伝達効率ならびにシナプス可塑性を統合的に調節し、不安や恐怖などの情動調節に重要な役割を果たしていると考えられる。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 劔 物 修

副 査 教 授 吉 岡 充 弘

副 査 教 授 丸 藤 哲

学位論文題名

セロトニン作動性神経による海馬シナプス伝達調節機構の解明

海馬 CA1 および CA3 領域における電気生理学的検討

セロトニン (5-HT; 5-hydroxytryptamine) は中枢神経系において睡眠、体温調節、情動や記憶学習に重要な役割を担っている神経伝達物質である。中枢 5-HT 作動性神経は縫線核を起始部とし、脳内広範囲に投射している。特に記憶に不可欠な部位である海馬に高密度に分布しており、不安関連記憶にも関わっていることから、不安障害の病態に深く関連していると考えられる。実際、臨床的にも 5-HT_{1A} 受容体作動薬を代表とする種々の 5-HT 系薬物が抗不安薬として応用されている。しかし、5-HT 神経系がいかなる機序により不安障害に関与しているかについては未だに一定の見解は得られていない。本研究は現在抗不安薬として注目されている選択的 5-HT 再取込み阻害薬 (selective serotonin reuptake inhibitor; SSRI) に着目し、電気生理学的手法を用いて 5-HT 作動性神経と不安との関連性について追究した。すなわち、海馬 CA1 および CA3 領域のシナプス伝達効率とシナプス可塑性に及ぼす内因性 5-HT の影響および関与する 5-HT 受容体を明らかにすることを具体的な目標とした。

実験動物は Wistar 系雄性ラットを使用した。内因性 5-HT 濃度を増加させるために SSRI の一つである fluvoxamine を使用した。脳内微小透析法により測定した海馬細胞外液中の 5-HT 濃度は、fluvoxamine (30 mg/kg, i.p.) により約 2.5 倍に増加した。電気生理学の実験は 1% ハロタン麻酔下で海馬 CA1/Schaffer および CA3/Mossy fiber について検討した。シナプス伝達効率とシナプス可塑性の指標として、CA1 領域と CA3 領域の誘発集合電位 (population spike amplitude; PSA) および記憶学習の電気生理学的基盤と考えられる長期増強 (long-term potentiation; LTP) を計測した。

Fluvoxamine (30 mg/kg, i.p.) により CA1 ならびに CA3 領域の PSA は有意に増加した。CA1 における fluvoxamine の PSA の増加作用は 5-HT_{1A} 受容体拮抗薬 NAN 190 (0.5 mg/kg, i.p.) により有意に増強し、5-HT₄ 拮抗薬 GR 113808 (20 µg/rat, i.c.v.) および 5-HT₂ 受容体拮抗薬 DR 4004 (10 µg/rat, i.c.v.) により有意に抑制された。一方、CA3 における fluvoxamine の PSA の増加作用は NAN 190, DR 4004 により有意に抑制されたが、GR

113808 による影響は認められなかった。これらの結果から、CA1 領域の内因性 5-HT によるシナプス伝達機構には 5-HT_{1A} 受容体が抑制性に関与し、5-HT₄、5-HT₇ 受容体が促進性に調節していることが示唆された。また、CA3 領域の 5-HT によるシナプス伝達機構には 5-HT_{1A} および 5-HT₇ 受容体が促進性に関与していることが明らかになった。5-HT₄ 受容体は fluvoxamine によるシナプス伝達機構には関与していないことが判明した。これらの結果は外因性に投与した 5-HT 受容体作動薬によっても確認された。すなわち、CA1 の PSA は 5-HT_{1A} 受容体作動薬 tandospirone (10 mg/kg, i.p.) により抑制され、5-HT₄ 受容体作動薬 SC 53116 (1 および 10 µg/rat, i.c.v.) により促進された。CA3 領域では tandospirone により PSA は増加したが、SC 53116 による影響は見られなかった。次に内因性 5-HT のシナプス可塑性ならびに関与する 5-HT 受容体について検討した。CA1 領域では fluvoxamine (10mg および 30 mg/kg, i.p.) により LTP 生成は抑制された。一方、CA3 領域の LTP は fluvoxamine 投与により影響を受けなかった。CA1 における fluvoxamine (30 mg/kg, i.p.) による LTP 抑制作用は、NAN 190 (0.5 mg/kg, i.p.) により有意に拮抗された。しかしながら、GR 113808 (20 µg/rat, i.c.v.) および DR 4004 (10 µg/rat, i.c.v.) による影響は認められなかった。すなわち、CA1 領域における内因性 5-HT のシナプス可塑性抑制には、シナプス伝達機構を調節している 3 つの 5-HT 受容体の中で 5-HT_{1A} 受容体に関与していることが示された。これらの結果は 5-HT_{1A} 受容体作動薬 tandospirone (1 および 10 mg/kg, i.p.) 投与により CA1 領域では LTP は形成されなかった事実によって確かめられた。

以上の結果から、fluvoxamine による CA1 および CA3 領域のシナプス伝達効率促進作用には少なくとも 3 つの 5-HT 受容体—5-HT_{1A}、5-HT₇あるいは 5-HT₄ 受容体に関与していること、また、これらの受容体による調節機構は CA1、CA3 領域で異なっていることが明らかになった。さらに、fluvoxamine および tandospirone は CA3 の LTP には影響せず CA1 の LTP のみを抑制した。5-HT 神経系はこのように異なった 5-HT 受容体を介し、CA1 および CA3 領域におけるシナプス伝達効率ならびにシナプス可塑性を統合的に調節し、不安障害の病態生理に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

発表後、副査丸藤教授から、ハロタン麻酔が実験結果に及ぼす影響について、fluvoxamine 投与による海馬細胞外液中 5-HT 濃度上昇とシナプス伝達効率上昇の時間差について、および 5-HT_{1A} 受容体を介した CA3 のシナプス伝達効率抑制機序について、副査吉岡教授から、CA1、CA3 の電気的特性に差異を認めた機序について、CA1、CA3 における 5-HT 受容体の分布について、CA3 のシナプス伝達効率の調節に 5-HT₄ 受容体に関与しない理由、および CA1、CA3 の機能的役割について質問された。また主査劔物教授からは、SSRI のペインクリニック領域への応用の可能性について質問がなされた。これらに対し申請者は、実験成績と過去の文献を引用し、概ね適切に回答した。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、申請者が博士 (医学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。