

## 脳機能発達の臨界期からみた情動行動と 海馬シナプス応答との関連性

－幼若期ストレス負荷ラットを用いた電気生理ならびに行動解析－

### 学位論文内容の要旨

【目的】ストレスに応答する脳内システムは、生後発達の過程で形成される。このため、急速な脳機能発達がみられる幼児期における過度のストレス曝露は、情動神経回路網の形成異常を引き起こし、成長後のストレス関連性精神疾患の背景となっている可能性が指摘されている。情動神経回路であるラット海馬のシナプス可塑性すなわち長期増強(LTP)現象は、記憶、学習の電気生理学的基盤と考えられており、様々なストレスによって抑制されることが報告されている。しかし、情動行動観察下に海馬シナプス応答をリアルタイムで検討した報告は少ない。本研究は、脳発達の臨界期におけるストレスが情動神経回路の発達に影響を与えるとの仮説に基づき、幼若期の異なる時期にストレス曝露された成熟ラットを用い、情動ストレスによる海馬シナプス伝達効率の変化を行動解析と同時に覚醒下で捉えることを試みた。さらに、ストレス応答機構に重要な役割を担っているセロトニン(5-HT)神経調節機構に焦点を当て、脳発達からみた海馬シナプス応答に対する 5-HT<sub>1A</sub> 受容体の機能的役割を薬理学的に追究した。

【方法】幼若期ストレスとして、生後 2 週齢あるいは 3 週齢の雄性ラットに footshock(FS: 刺激強度 0.5mA, 刺激時間 2 秒間, 刺激間隔 30 秒毎)を 1 日 1 回、5 日間負荷した(以下、2w-FS 群、3w-FS 群とする)。10-12 週齢時に、新奇環境ストレスに対する応答性の評価系である Openfield(OF)試験、ならびに記憶に基づいた条件恐怖ストレスである Contextual fear conditioning(CFC)試験で行動解析を行った。同時に無麻酔無拘束下で、Schaffer 側枝に電気刺激を与えて海馬 CA1 領域に誘発される集合電位(PSA)を経時的に測定した。また、5-HT<sub>1A</sub> 受容体作動薬 tandospirone が幼若期ストレス負荷ラットの CA1 領域シナプス伝達効率に与える影響を麻酔下で検討した。

【結果】1) OF 試験では、2w-FS 群ならびに対照群(Non-FS 群)と比較して、3w-FS 群に行動パターンの変化が認められたが、PSA の変化に各群間の差はなかった。2) FS 負荷 24 時間後に同じ FS 箱に再曝露して CFC 試験を行った結果、2w-FS 群のすくみ行動(freezing)は、Non-FS 群および 3w-FS 群と比べ有意に減少した。CFC 中に Non-FS 群および 3w-FS 群では PSA の減少がみられたが、2w-FS 群では認められなかった。3) 麻酔下において、高頻度刺激により生じた LTP 形成は各群間に差はみられなかった。4) Non-FS 群および 3w-FS 群では tandospirone (5 mg/kg, i.p.)前処置により LTP 形成は抑制された。一方、2w-FS 群では tandospirone による LTP 抑制が認められず、LTP が形成された。

【考察】幼若期のストレス曝露は、CFC による行動応答ならびに海馬シナプス反応に影響をおよぼし、それには臨界期が存在することが示された。また、CFC による海馬シナプス伝達効率の変化には、5-HT<sub>1A</sub> 受容体を介した 5-HT 神経調節機構が関連していると考えられた。換言すると、2w-FS 群でみられた情動行動とシナプス応答の異常は、脳発達における 5-HT<sub>1A</sub> 受容体の機能変化による可能性が示唆された。

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 福 島 和 昭

副 査 教 授 鈴 木 邦 明

副 査 教 授 赤 池 忠

副 査 教 授 吉 岡 充 弘 (医学研究科)

## 学 位 論 文 題 名

### 脳機能発達の臨界期からみた情動行動と 海馬シナプス応答との関連性

－ 幼若期ストレス負荷ラットを用いた電気生理ならびに行動解析 －

審査は、福島、鈴木、赤池および吉岡の各審査担当者が学位申請者に対して提出論文の内容ならびに関連事項について、口頭試問により行われた。はじめに学位申請者に対し、本論文の要旨の説明を求めたところ、以下の内容について論述した。

ストレスに応答する脳内システムは、生後発達の過程で形成される。このため、急速な脳機能発達がみられる幼児期における過度のストレス曝露は、情動神経回路網の形成異常を引き起こし、成長後のストレス関連性精神疾患の背景となっている可能性が指摘されている。情動神経回路であるラット海馬のシナプス可塑性すなわち長期増強(LTP)現象は、記憶、学習の電気生理学的基盤と考えられており、様々なストレスによって抑制されることが報告されている。しかし、情動行動観察下に海馬シナプス応答をリアルタイムで検討した報告は少ない。本研究は、脳発達の臨界期におけるストレスが情動神経回路の発達に影響を与えるとの仮説に基づき、幼若期の異なる時期にストレス曝露された成熟ラットを用い、情動ストレスによる海馬シナプス伝達効率の変化を行動解析と同時に覚醒下で捉えることを試みた。さらに、ストレス応答機構に重要な役割を担っているセロトニン(5-HT)神経調節機構に焦点を当て、脳発達からみた海馬シナプス応答に対する5-HT<sub>1A</sub>受容体の機能的役割を薬理学的に追究した。幼若期ストレスとして、生後2週齢あるいは3週齢の雄性ラットにfootshock(FS:刺激強度0.5mA, 刺激時間2秒間, 刺激間隔30秒毎)を1日1回、5日間負荷した(以下、2w-FS群、3w-FS群とする)。10-12週齢時に、新奇環境ストレスに対する応答性の評価系であるOpenfield(OF)試験、ならびに記憶に基づいた条件恐怖ストレスである

Contextual fear conditioning (CFC) 試験で行動解析を行った。同時に無麻酔無拘束下で、Schaffer 側枝に電気刺激を与えて海馬 CA1 領域に誘発される集合電位 (PSA) を経時的に測定した。また、5-HT<sub>1A</sub> 受容体作動薬 tandospirone が幼若期ストレス負荷ラットの CA1 領域シナプス伝達効率に与える影響を麻酔下で検討した。OF 試験では、2w-FS 群ならびに対照群 (Non-FS 群) と比較して、3w-FS 群に行動パターンの変化が認められたが、PSA の変化に各群間の差はなかった。FS 負荷 24 時間後に同じ FS 箱に再曝露して CFC 試験を行った結果、2w-FS 群のすくみ行動 (freezing) は、Non-FS 群および 3w-FS 群と比べ有意に減少した。CFC 中に Non-FS 群および 3w-FS 群では PSA の減少がみられたが、2w-FS 群では認められなかった。麻酔下において、高頻度刺激により生じた LTP 形成は各群間に差はみられなかった。Non-FS 群および 3w-FS 群では tandospirone (5 mg/kg, i. p.) 前処置により LTP 形成は抑制された。一方、2w-FS 群では tandospirone による LTP 抑制が認められず、LTP が形成された。幼若期のストレス曝露は、CFC による行動応答ならびに海馬シナプス反応に影響をおよぼし、それには臨界期が存在することが示された。また、CFC による海馬シナプス伝達効率の変化には、5-HT<sub>1A</sub> 受容体を介した 5-HT 神経調節機構が関連していると考えられた。換言すると、2w-FS 群でみられた情動行動とシナプス応答の異常は、脳発達における 5-HT<sub>1A</sub> 受容体の機能変化による可能性が示唆された。

試問では、フィールド記録の評価として EPSP ではなく PSA を選択した理由について、基礎的検討により EPSP と PSA には解離はみられなかったことを前提に、特に本研究のような比較的小さな電位変化を捉えるために、より計測方法が簡便な PSA を用いることにより technical error の発生を最小限にすることを目的としたと回答した。また、個体間における PSA の比較を行わなかった理由として、記録電極周囲の神経細胞のうち、活動電位をとらえた細胞数が各個体により異なるためであると回答した。さらに今後の展望として、より臨床に即した行動実験系を用いた覚醒下電気生理学的検討が歯科恐怖症を含むストレス関連精神疾患の機序解明に寄与する可能性を示唆し、本研究はその基盤となる極めて有意義なものであると判断された。

以上より、審査委員は全員、本研究が学位論文に十分値し、申請者が博士 (歯学) の学位授与に相応しいと認定した。