

博士(医学) 平田 力

学位論文題名

ストレスと海馬シナプス応答機構に関する研究

– Metaplasticity との関連性 –

学位論文内容の要旨

海馬は思考過程に重要な役割を担う脳部位であり、そこで観測されるシナプス可塑性である長期増強 (long-term potentiation: LTP) あるいは長期抑制 (long-term depression: LTD) 現象は学習・記憶の形成との密接な関連性が示唆されている。特にLTPは、様々な情動ストレスにより抑制され、生体内の内分泌反応系にも影響する。これらのことから、海馬にて観測されるシナプス可塑性は、ストレス応答に重要な役割を果たしていると推察される。しかしながら、これまでの知見は脳スライスや麻酔下の実験動物を用いた報告であり、海馬シナプス応答におよぼすストレスの影響を覚醒下にて解析した報告は極めて少ない。

LTPやLTDなどのシナプス可塑性は、シナプス活動や細胞レベルにおける活動履歴によってその程度や様式が修飾されることが知られている。このシナプス伝達における現象は“シナプス可塑性の可塑性” (metaplasticity) と呼ばれている。さらにこのmetaplasticityには、同一シナプス間における活動依存的変化によって調節される homosynaptic metaplasticity と、他の脳領域からの活動依存的変化によって調節される heterosynaptic metaplasticity が存在しており、複雑な神経回路網の基盤として考えられている。

以上の背景に基づき、本研究では脳内情動神経回路の情報処理機構に対するストレス曝露の影響について、覚醒条件下にて電気生理学的および神経化学的に追究することを目的とした。まず、①無麻酔・無拘束ラットを用いて海馬における Schaffer 側枝-CA1 領域間のシナプス応答におよぼす情動ストレスの影響および脳内微小透析法を用いてストレス負荷時の海馬細胞外アミノ酸の変化を検討した。次に、②情動ストレスにおける海馬シナプス応答に対する抗不安薬の効果を薬理学的に検討した。さらに③海馬シナプス応答における metaplasticity に着目し、海馬シナプス可塑性に対する低頻度刺激 (low frequency stimulation: LFS) の影響および内側前頭前野 (medial prefrontal cortex: mPFC) との関連性について電気生理学・神経化学的に検討した。

情動ストレスとして新奇環境ストレス (open field stress: OFS)、高所恐怖ストレス (elevated platform stress: EPS) および文脈的恐怖条件ストレス (contextual fear conditioning stress: CFS) を用いた。海馬シナプス応答におよぼすこれらの情動ストレスの影響を覚醒下にて検討した結果、ストレス負荷時には誘発集合電位 (population spike amplitude: PSA) の低下 (LTD 様反応) が観察された。また、OFS 負荷では LTP が形成されたが、EPS 負荷および CFS 曝露では LTP は形成されなかった。ストレス応答性の神経内分泌的指標として測定した血漿コルチコステロンは、各対照群と比較して各ストレス負荷によって上昇していた。さらに CFS 曝露時の海馬 CA1 領域における細胞外グルタミン酸に変化はなく、GABA のみが上昇した。これらのことからストレス負荷によって海馬 CA1 領域で観察された LTD 様反応は、GABA 作動性神経の活性化によって引き起こされる可能性が考えられた。

情動ストレスにおけるシナプス応答に対してベンゾジアゼピン系抗不安薬 diazepam およびセロトニン系抗不安薬 tandospirone (5-HT_{1A}受容体部分作動薬) を用いて薬理学的に

検討した。その結果、EPS 負荷による海馬 CA1 領域における LTP 抑制は EPS 負荷前の diazepam 投与によって改善された。また、CFS 曝露による LTP 抑制も CFS 曝露前の tandospirone 投与によって改善された。ストレス負荷による LTD 様反応は GABA 作動性神経の活性化が関与していたことから、抗不安薬の効果は海馬 CA1 領域におけるストレス負荷による GABA 遊離や LTP 抑制を変化させたと考えられる。

LFS は、覚醒下で海馬 CA1 領域での PSA を減少させ、LTP 形成を抑制した。海馬 CA1 領域におけるシナプス応答は LFS 処置によって抑制され、homosynaptic metaplasticity が観察された。また、CFS 曝露あるいは LFS 処置は、それぞれ血漿コルチコステロンを上昇させること、細胞外グルタミン酸を変化させずに GABA のみを上昇させること、さらに LTP 形成の抑制を引き起こすことから、LFS 処置とストレス負荷時の海馬シナプスにおける LTD 様の反応には、共通の神経機構が存在する可能性が考えられた。また、LFS 処置あるいはストレス負荷による海馬 CA1 領域に生じた LTD 様反応は、いずれも GABA 作動性神経の活性化に起因していることが示唆された。

mPFC の電気刺激は海馬 CA1 領域における LFS 処置による LTP の抑制を回復させ、heterosynaptic metaplasticity が観察された。一方、tetanus 刺激のみによる LTP 誘導には影響しなかった。これらのことから、通常の海馬 CA1 領域におけるシナプス伝達には mPFC は影響をおよぼさないが、ストレス負荷による LTP 抑制あるいは LFS 処置による homosynaptic metaplasticity といった海馬 CA1 領域でのシナプス応答の変化に対して調節的役割を担っている可能性が示唆された。

本研究では、ストレスによる脳内情動神経回路の情報処理機構を、特に海馬 CA1 領域に焦点を当て、無麻酔無拘束ラットを用いて電気生理学的に初めて明らかにした。これらの研究成果は心的外傷後ストレス障害 (posttraumatic stress disorder: PTSD) などの情動記憶に異常をきたすストレス関連精神疾患の病因・病態解明や新たな治療法開発の糸口になることが期待される。さらに本研究にて使用した覚醒下の実験動物を用いた電気生理学的アプローチは、ストレスによる脳内情動神経回路の情報処理機構を明らかにするための有用な研究戦略になるとと考えられる。

学位論文審査の要旨

主査 教授 吉岡 充 弘

副査 教授 渡辺 雅彦

副査 教授 三輪 聰一

学位論文題名

ストレスと海馬シナプス応答機構に関する研究

– Metaplasticity との関連性 –

海馬におけるシナプス可塑性である長期増強 (LTP) あるいは長期抑圧 (LTD) 現象は、様々な情動ストレスによって変化を受けることから、ストレス応答機構と密接な関連性があると考えられている。本研究は、脳内情動神経回路の情報処理機構におけるストレス曝露の影響について、海馬シナプス応答における metaplasticity に着目し覚醒条件下にて電気生理学的、神経化学的に追究した。

まず無麻酔・無拘束ラットを用いて海馬における Schaffer 側枝-CA1 領域間のシナプス応答におよぼす情動ストレスの影響および脳内微小透析法を用いてストレス負荷時の海馬細胞外アミノ酸の変化を検討した。その結果、本研究にて情動ストレスとして負荷した新奇環境ストレス (OFS)、高所恐怖ストレス (EPS) および文脈的恐怖条件ストレス (CFS) によって、それらのストレス負荷中は海馬 CA1 領域において誘発集合電位 (PSA) の低下が観察された。また、OFS 負荷は tetanus 刺激による LTP 形成に影響を与えたが、EPS 負荷と CFS 曝露は LTP 形成を抑制した。ストレス応答性の神経内分泌的指標として測定した血漿コルチコステロンは、各対照群と比較して各ストレス負荷によって上昇していた。さらに CFS 曝露時の海馬 CA1 領域における細胞外グルタミン酸に変化はなく、GABA のみが上昇した。これらのことからストレス負荷によって海馬 CA1 領域で観察された PSA の低下は、GABA 作動性神経の活性化によって引き起こされる可能性が示唆された。

次に海馬シナプス応答における metaplasticity に着目し、海馬シナプス可塑性に対する低頻度刺激 (LFS) の影響について電気生理学・神経化学的に検討した。LFS 処置は、海馬 CA1 領域での PSA を減少させ、LTP 形成を抑制した。海馬 CA1 領域におけるシナプス応答は LFS 処置によって抑制され、homosynaptic metaplasticity が観察された。さらに LFS 処置によって血漿コルチコステロンは上昇し、海馬 CA1 領域における細胞外グルタミン酸に変化はなく、GABA のみが上昇した。

以上の結果より、CFS 曝露あるいは LFS 処置は、それぞれ血漿コルチコステロンを上昇させること、細胞外グルタミン酸を変化させずに GABA のみを上昇させること、さらに LTP 形成の抑制を引き起こすことから、LFS は、海馬シナプスにおいてストレス負荷によって誘発される神経活動と類似している可能性が考えられた。このような海馬における電気生理学的および神経化学的なストレス応答は、過剰なストレスに対応するためのストレスコーピング現象の一つである可能性が示唆された。

公開発表後、副査 渡辺教授から LFS が GABA 遊離を促進する機序、ストレス負荷によって生じる海馬の機能変化ならびにストレス負荷から海馬シナプスに LFS が生じるメカニズムについて、また副査 三輪教授から海馬で遊離された GABA の作用点ならびに PSA の

低下の発現機序について質問がなされた。さらに、主査 吉岡教授から脳内で生じる metaplasticity の生理学的・病態生理学的意義について質問がなされた。いずれの質問に対しても、申請者は実験成績と過去の文献などを引用し、概ね適切に回答した。

これらの研究成果は、心的外傷後ストレス障害 (PTSD) などの情動記憶に異常をきたすストレス関連精神疾患の病因・病態解明や新たな治療法開発の糸口になることが期待される。さらに本研究にて使用した覚醒下の実験動物を用いた電気生理学的アプローチは、ストレスによる脳内情動神経回路の情報処理機構を明らかにするための有用な研究戦略になると考えられる。

審査員一同は、これらの成果を評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに充分な資格を有するものと判定した。