



Title	ストレスによるコカイン欲求行動の増強機構の解明：内側前頭前皮質におけるノルアドレナリンおよびドパミン作動性神経伝達の役割 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	篠原, 史弥
Citation	北海道大学. 博士(薬科学) 甲第14666号
Issue Date	2021-09-24
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/83330
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Fumiya_Shinohara_abstract.pdf (論文内容の要旨)



[Instructions for use](#)

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士(薬科学) 氏名 篠原史弥

学位論文題名

ストレスによるコカイン欲求行動の増強機構の解明
—内側前頭前皮質におけるノルアドレナリンおよびドパミン作動性神経伝達の役割—

【序論】

薬物依存症は、コカインを含む乱用薬物への異常な欲求行動の繰り返しにより日常生活に支障を生じさせる精神疾患であり、有効性の高い治療法は確立されていない。依存症治療においては薬物への異常な欲求行動の制御が重要である。この欲求行動は薬物関連手がかり (cue) 刺激やストレスによって惹起あるいは増強されることがわかっているが、そのメカニズムには不明な点が多く、新規依存症治療薬創製のためにはその解明が求められている。

ストレスは青斑核 (LC) に存在するノルアドレナリン (NA) 作動性ニューロンを活性化させ、多くの脳領域において NA 作動性神経情報伝達を亢進させる。我々はこれまでに、薬物関連 cue 刺激によるコカイン欲求行動の発現に背外側被蓋核 (LDT) から腹側被蓋野 (VTA) へのコリン作動性神経情報伝達、および、それに続く VTA から内側前頭前皮質 (mPFC) へのドパミン (DA) 作動性神経情報伝達が関与することを明らかにしてきた。LDT や mPFC においては LC からの NA 神経投射が認められていることから、ストレス負荷時に NA 作動性神経情報伝達亢進を介して LDT-VTA-mPFC 経路が駆動し、これがストレスによるコカイン欲求行動の惹起あるいは増強に関与する可能性が考えられた。本研究ではこの点を行動薬理学的手法により検討するとともに、電気生理学的、神経化学的手法によりその詳細なメカニズムを検討した。

【方法と結果】

1. 拘束ストレス負荷によりコカイン欲求行動は増強する

ストレスによるコカイン欲求行動の発現あるいは増強を評価する試験系の構築を試みた。行動薬理学的手法である条件付け場所嗜好性 (CPP) 試験では、薬物報酬刺激と場所条件刺激を組み合わせ提示することで成立する連合学習 (条件付け) の後に、場所条件刺激のみを提示することで (ポストテスト)、条件付け前に比べて薬物と関連付けられた場所での滞在時間の増加 (CPP score の増加) を計測することにより、薬物への欲求行動を評価することができる。雄性 SD ラットを用いて、この CPP 試験のポストテストの直前に拘束ストレス負荷を行い、コカイン (5 mg/kg) 誘導性 CPP がどのような影響を受けるかを調べた。30 分間の拘束ストレスを負荷した結果、CPP score の有意な増加が認められた。CPP 試験を用いることにより、ストレスによるコカイン欲求行動の増強を評価できることが示された。

2. ストレスによるコカイン欲求行動増強に LC-LDT-VTA 経路の駆動による mPFC への DA 作動性神経情報伝達が関与する

上記の試験系を用いて、拘束ストレス負荷によるコカイン欲求行動増強機構を調べた。ストレス負荷前に LDT 内に $\alpha 1$, $\alpha 2$, あるいは、 β 受容体アンタゴニストを投与したところ、 $\alpha 1$ あるいは β 受容体アンタゴニスト投与群において、ストレスによるコカイン欲求行動増強が抑制された。また VTA 内にムスカリン性あるいはニコチン性アセチルコリン受容体アンタゴニストを投与したところ、いずれの処置でもストレスによるコカイン欲求行動増強が抑制された。さらに、mPFC 内に D1 あるいは D2 受容体アンタゴニストを投与したところ、D1 受容体の遮断により、ストレスによるコカイン欲求行動増強が抑制された。以上より、ストレスによる $\alpha 2$ および β 受容体を介した LDT への NA 作動性神経情報伝達亢進が、VTA へのコリン作動性神経情報伝達とそれに続く

mPFC への D1 受容体を介した DA 作動性神経情報伝達を亢進させることで、ストレスによるコカイン欲求行動増強を引き起こす可能性が示唆された。

3. 拘束ストレス負荷により mPFC における DA および NA 遊離量は増加する

mPFC への NA 作動性神経情報伝達もストレスによるコカイン欲求行動増強に関与することが報告されている。一方で、mPFC ニューロンの活動調節における DA および NA 作動性神経情報伝達の関連性は必ずしも明らかになっていない。そこで、この点を検討するために、まず、mPFC における DA および NA 遊離量に対する拘束ストレス負荷の影響をインビボマイクロダイアリシス法により検討した。拘束ストレス負荷中から負荷解除後にかけて、mPFC における DA および NA の遊離量がともに有意に増加することが示された。ストレスによるコカイン欲求行動増強時には mPFC において DA および NA 作動性神経情報伝達とともに亢進していることが示唆された。

4. ストレスによるコカイン欲求行動増強時に mPFC における c-Fos 発現が増加する

ストレスによるコカイン欲求行動増強時に mPFC ニューロンの神経活動が亢進するか否かを神経活動マーカーである c-Fos の発現を指標に調べた。コカイン欲求行動増強を示したストレス負荷群では非ストレス負荷群に比べて mPFC における c-Fos 陽性細胞数は有意に多かった。ストレスによるコカイン欲求行動増強時には mPFC ニューロンの活動上昇が起こることが示された。

5. DA は mPFC V 層錐体細胞を興奮させ、NA は DA の興奮性作用を増強する

上記の結果から、ストレス負荷により亢進した DA および NA 作動性神経情報伝達が相加的あるいは相乗的に作用し、mPFC ニューロンの活動を上昇させる可能性が考えられた。この点を調べるため、電気生理学的手法であるホールセルパッチクランプ法を用いて、mPFC V 層錐体細胞の興奮性に対する DA および NA の作用を検討した。mPFC を含む冠状脳スライスに対して DA を単独バス適用したところ、mPFC V 層錐体細胞の保持電流はネガティブ方向へ有意に変化した。この結果は、DA が脱分極性に作用したことを示している。さらに、DA 存在下に NA を付加適用したところ、保持電流のさらなるネガティブ方向への変化が観察された。自発性興奮性シナプス後電流頻度についても、DA により増加傾向が認められ、NA の付加適用により有意な増加が観察された。以上より、ストレス負荷による DA 作動性神経情報伝達の亢進は mPFC V 層錐体細胞を脱分極させ、NA 作動性神経情報伝達の亢進はそれを増強するとともに、同細胞における興奮性入力を増加させ、神経活動をより活性化させる可能性が示された。

【総括】

本研究では、LDT への NA 作動性神経情報伝達亢進が、LDT から VTA へのコリン作動性神経情報伝達、さらには、VTA から mPFC への DA 作動性神経情報伝達を亢進させ、ストレスによるコカイン欲求行動増強に関与することを示した。また、mPFC ニューロンの活動調節における DA および NA 作動性神経情報伝達の相互作用について検討し、拘束ストレス負荷により mPFC において DA および NA 遊離量がともに増加すること、また、mPFC V 層錐体細胞に対する DA の興奮性作用が NA により増強されることを明らかにした。ストレスによる薬物欲求行動増強の神経機構の一端を明らかにした本研究成果は、薬物依存症治療に関する研究の進展に貢献することが期待できる。