



Title	幼若期ストレスによって生じる成熟期ラットのうつ様行動に対するケタミンの効果とその神経基盤研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	相川, 勝洋
Description	配架番号 : 2435
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第13421号
Issue Date	2019-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/74301
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Katsuhiro_Aikawa_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 相 川 勝 洋

学 位 論 文 題 名

幼若期ストレスによって生じる成熟期ラットのうつ様行動に対するケタミンの効果とその
神経基盤研究

(Studies about the effect of ketamine on the juvenile stress-induced depression-like
behavior and alteration of neural activity in adult rats)

【背景と目的】

現在うつ病は世界で約 3 億人が罹患する深刻な疾患であり、発病には虐待などの幼少期の強いストレスが強く関係することが知られている。これは、シナプス新生・刈り込みなどの重要な過程にある幼若期の脳が強いストレスに曝露されることにより、成長後も遷延する機能異常が生じることが要因であると考えられている。実際このような患者はストレス感受性が高く、うつ病を始めとした精神疾患の発病率が高い事、うつ病に陥った場合治療抵抗性を示す傾向があることが報告されている。2000 年の Barman らの報告以降、画期的な抗うつ薬として注目を集めているケタミンについて、ヒト・動物を対象にした数多くの研究が行われているが、幼若期ストレスを負荷された対象への効果に着目した研究は現在のところ見当たらない。そのため、治療抵抗性うつ病の要因である幼若期ストレスを負荷した動物を用いて、ケタミンの抗うつ効果を検証することは有意義であると考えた。

うつ病の病態生理は完全には解明されていないが、気分のコントロールに重要な内側前頭前野の興奮性伝達、すなわちグルタミン酸系伝達の減弱が重要な要素であり、ケタミンはこの変化を回復させることで抗うつ効果を発揮すると考えられている。そこで本研究では、「幼若期ストレスに起因する成熟期のうつ様行動および減弱した内側前頭前野の興奮性伝達をケタミンが回復させる」という仮説を設定し、行動学的変化および内側前頭前野のグルタミン酸伝達系に焦点を当て、ケタミンの有効性について検証することとした。

【材料と方法】

実験には、妊娠 Wister/ST 系ラットから産まれた雄性ラットを用いた。生後 21 日齢で母子分離し、幼若期ストレスとして 25 日齢まで 5 日間連続した足蹠電気刺激ストレス（3wFS）を負荷した。対照としては電気刺激を与えないラットを用いた。10 週齢に達した後ケタミン 10 mg/kg もしくは生理食塩水（VEH）を腹腔内投与した上で、うつ様行動である強制水泳試験における無動時間の比較、内側前頭前野 Prelimbic 領域（PL）第 V 層錐体細胞を対象とした Whole-cell patch-clamp 法による電気生理学的解析、および共焦点レーザー顕微鏡を用いて、グルタミン酸受容体の発現量を反映する樹状棘突起（spine）の形態解析を行った。ラットは 3wFS およびケタミンの有無により 4 群に分けられた。

統計は主に two-way analysis of variance（ANOVA）を用い、交互作用が有意だった場合は one-way ANOVA による単純主効果の比較を行った。

【結果】

強制水泳試験：VEH 群において 3wFS により immobility が増加し（ $p=0.001$ ）、3wFS 群においてケタミンにより immobility が減少した（ $p=0.02$ ）。つまり、3wFS によって増

加した immobility がケタミンにより回復することが示された。

Whole-cell patch-clamp 記録：自発性興奮性シナプス後電流 (sEPSC) に関して、VEH 群において 3wFS により振幅が低下し ($p < 0.001$)、3wFS 群においてケタミンにより振幅が増加した ($p < 0.001$)。また、VEH 群において 3wFS で頻度が減少し ($p < 0.001$)、3wFS 群においてケタミンにより増加した ($p < 0.001$)。すなわち、3wFS によって減少した sEPSC の振幅および頻度がケタミンにより増加する事が示された。テトロドトキシンを用いた微小 EPSC (mEPSC) の測定を行ったところ、VEH 群において 3wFS により振幅が減少し ($p < 0.001$)、3wFS 群においてケタミンにより増加した ($p < 0.001$)。また、VEH 群において 3wFS は頻度を減少させ ($p < 0.001$)、3wFS 群において、ケタミンにより頻度が増加した ($p < 0.001$)。つまり、3wFS によって減少した振幅および頻度が、ケタミンにより回復したことが示された。

蛍光染色による形態評価：先端樹状突起の spine の密度が、VEH 群において 3wFS により減少した ($p < 0.001$)。3wFS 群において、ケタミンにより回復傾向が見られた ($p = 0.097$)。また成熟 spine の比率に関しては、ケタミンの主効果を認め ($p = 0.003$)、ケタミンにより成熟 spine が増加する事が示された。すなわち、3wFS によって先端樹状突起上の spine の密度が減少し、ケタミンにより密度の回復傾向と、成熟 spine の比率増加が生じた。基底樹状突起の spine に関しては、3wFS およびケタミンの効果は認められなかった。

【考察】

3wFS によって増加した強制水泳試験における無動時間がケタミンにより回復したことから、ケタミンが幼若期ストレスにより生じたうつ様変化を回復させたことが行動学的に示唆された。さらに内側前頭前野の sEPSC が 3wFS によって減少しケタミンにより増加したことから、内側前頭前野のグルタミン酸系伝達が行動変化と関連していることが示された。これらの関連性は先行研究と一致しており、幼若期ストレスにより成熟後も内側前頭前野における EPSC が減弱することが、うつ様行動を引き起こしていることが示唆された。シナプスの性質的变化を詳細に検証するため mEPSC を測定した結果、同様に振幅および頻度が 3wFS により低下し、ケタミンにより増加した。mEPSC の振幅は、postsynapse の受容体の数または感度の増減を反映するが、本研究ではそれを裏付けるように先端樹状突起上の棘突起の AMPA 型受容体の数が 3wFS により減少し、ケタミンにより回復することが形態学的に示された。逆に、基底樹状突起の spine の形態は 3wFS およびケタミンにより変化しなかったことから、うつ様行動には先端樹状突起からの興奮性入力に寄与していることが示唆された。ストレスにより内側前頭前野第 I-II 層、つまり第 V 層錐体細胞の先端樹状突起が位置する部位の容量が減少する事が先行研究により報告されており、本研究における EPSC の結果は、この変化を反映している可能性がある。

本研究は相関研究であることから、今後ケタミンの効果を打ち消すブロッカーを用いて、因果関係を明らかにすることが必要である。さらに、一般的にケタミンの抗うつ効果は、単回投与の後約 7 日間持続する事が知られているが、治療抵抗性の高い幼若期ストレスを経験したヒトおよび動物で、どのような time course を辿るのかに関して、今後検討の必要がある。

【結 論】

ケタミンが幼若期ストレスに起因するうつ様変化に対して有効であるかどうかを、3wFS を負荷したラットを用いて行動学的、電気生理学的、形態学的に検証した。その結果、ケタミンは内側前頭前野 PL 第 V 層錐体細胞の先端樹状突起におけるグルタミン酸伝達を改善する事で、幼若期ストレスにより生じたうつ様変化を回復させることが示唆された。