HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	不安、恐怖記憶におけるセロトニン5-HT2c受容体の役割に関する研究［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	根深, 真央
Description	配架番号：2551
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14085号
Issue Date	2020-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/78039
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Mao_Nebuka_abstract.pdf, 論文内容の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

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　根深真央

学 位 論 文 題 名

不安、恐怖記憶におけるセロトニン 5-HT_{2C} 受容体の役割に関する研究

(Studies on the roles of the serotonin 5-HT_{2C} receptor in anxiety and fear memory)

【背景と目的】

不安障害と心的外傷後ストレス障害は、現代における重要な社会問題であるが、これらに対する治療薬の効果は、不十分である。より効果的かつ安全な治療薬を開発するためには、不安と恐怖記憶に関わる神経基盤の解明が重要である。不安障害や心的外傷後ストレス障害に今日用いられている治療薬の作用機序を踏まえると、セロトニン(5-hydroxytryptamine, 5-HT)神経系は、不安や恐怖記憶に関与していると思われる。5-HT 受容体は 14 のサブタイプがあり、そのうち薬理学的研究から、5-HT_{2C} 受容体は自発運動活性、不安、恐怖記憶に関与していることが示唆されている。薬理学的研究では、受容体の選択性に限界があることから、5-HT_{2C} 受容体欠損マウスを用いた研究が行われてきた。しかし、1)自発運動活性と不安に関しては、結果が一貫せず、2)恐怖記憶に関しては十分な検討がされていない。そこで本研究では、①より詳細な行動解析を行うことで、(A)自発運動活性と(B)不安に関するこれまでの一貫しない結果を説明可能とすること、②5-HT_{2C} 受容体が恐怖記憶の制御に果たす役割について明らかにすること、を目的とした。なお、自発運動活性の変化は不安や恐怖記憶の評価に必然的に影響するため、同時に調べる必要がある。さらに、③光遺伝学的手法と薬理学的手法を組み合わせることで、不安に関する責任脳部位を同定することを目的とした。

【対象と方法】

目的①、②については、雄性 5-HT_{2C} 受容体欠損マウスとその野生型同腹仔(野生型群)を用いて比較した。①-(A)のため、オープンフィールド試験を用いて試験中の運動量の経時変化を解析した。①-(B)のため、高架式十字迷路試験のオープンアーム 滞在時間、zero maze 試験のオープン区画滞在時間を不安の指標として解析した。更に、これまでの 5-HT_{2C} 受容体欠損マウスを用いた先行研究では解析されていなかった高架式十字迷路試験の中央区画滞在時間も解析対象に加えた。また、目的②のため、文脈的恐怖条件付け試験を実施した。マウスに電撃ショックを与えた 24 時間後、電撃ショックを与えずに前日と同じ環境にマウスを 30 分間再曝露した。マウスは前日の電撃ショックの恐怖を想起してすくみ行動(freezing)をとることから、時間経過に伴う freezing の減少を恐怖記憶の消去学習と解釈した。

目的③には、雌雄の 5-HT 神経選択的光感受性チャネル発現マウスを用いた。まず、5-HT 神経終末の活性化を光照射によって実現できていることを確認するために、脳内微小透析法を用いて 5-HT 遊離量の増加を確認した。不安の測定には、高架式十字迷路試験を用いた。先行研究から腹側海馬の関与が推定されたため、両側腹側海馬に向けて光ファイバーを留置し、試験中に 5-HT 神経終末の活動を上昇させ、不安様行動の増加が見られるかどうかを検証した。また、腹側海馬に

密に 5-HT 神経投射を送る神経核である正中縫線核の活動を上げることで不安様行動が増加することが先行研究で示されていることから、その不安惹起効果が 5-HT_{2C} 受容体拮抗薬の腹側海馬局所投与によって消失するかどうかを調べた。

【結果と考察】

①-(A)：経時変化を分析したところ、野生型群と比べて 5-HT_{2C} 受容体欠損群では、時間経過による運動活性の減少が鈍く、新奇環境への馴化が遅かった。①-(B)：高架式十字迷路試験のオープンアーム滞在時間には、群間で有意な差は見られなかった。一方、5-HT_{2C} 受容体欠損群では中央区画滞在時間が有意に長かった。更に、zero maze 試験ではオープン区画滞在時間が 5-HT_{2C} 受容体欠損群で有意に長かったことから、5-HT_{2C} 受容体欠損マウスでは不安水準が低下しているものと考えられる。Hill らは高架式十字迷路試験を用いていたため、中央区画滞在時間の延長によって差が検出できなかったものと推測される。

②：文脈的恐怖条件付け試験において、24 時間後に実施した再曝露中の freezing の減少は、5-HT_{2C} 受容体欠損群で有意に速かった。5-HT_{2C} 受容体欠損マウスは、恐怖記憶の消去学習が促進されていることが示唆される。しかし、①-(A)の運動量と②の freezing には負の相関傾向が見られた。よって、再曝露中の freezing の減少には、①-(A)で見られた運動量の経時変化の違いを含有している可能性がある。

③：5-HT 神経選択的光感受性チャネル発現マウスの腹側海馬を青色光照射することで、5-HT 細胞外濃度が上昇することを確認した。そして、5-HT 神経選択的光感受性チャネル発現マウスを用いて、腹側海馬の 5-HT 神経終末を活性化した結果、不安様行動は増加した。更に、正中縫線核 5-HT 神経の活性化による不安惹起作用は、腹側海馬への 5-HT_{2C} 受容体拮抗薬投与で消失した。これらの結果を総合すると、正中縫線核から腹側海馬に投射する 5-HT 神経の終末から遊離された 5-HT が腹側海馬に発現する 5-HT_{2C} 受容体を刺激することで不安が惹起されるものと考えられる。

【結論】5-HT_{2C} 受容体は不安惹起に関与すると言えるが、恐怖記憶への関与については保留とする。正中縫線核から腹側海馬に投射する 5-HT 神経がこの不安惹起作用に関与しているだろう。