

(様式 16)

## 学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称      博士 (医 学)      氏 名 隈 元 晴 子

	主査	教授	岩 永 敏 彦
審査担当者	副査	教授	田 中 伸 哉
	副査	教授	渡 邊 雅 彦
	副査	教授	久 住 一 郎

### 学 位 論 文 題 名

幼若期ストレスによるラットの社会性行動障害に関する研究  
(Early postnatal stress-induced social impairment in adult rats)

幼少期における身体的虐待やネグレクトの経験は、成長後の情動ストレスに対する感受性を亢進させ、成長後心的外傷後ストレス障害、脱抑制対人交流障害その他の行動障害を誘引するなど、成人後に対人関係などの社会生活に支障をきたすことが知られている。虐待を経験した大人や幼若期のストレス動物モデルを用いた研究では海馬をはじめとするさまざまな脳領域の体積の萎縮や細胞の形態学的変化等が報告されているが、社会性に与える影響やその治療可能性については明らかになっていない。本研究では第 1 章で生後 3 週齢のラットに嫌悪ストレスを負荷 (3wFS) したあと、選択的セロトニン再取り込み阻害薬 (SSRI) の *Fluvoxamine* を 14 日間反復経口投与し、生後 10 週齢時に *Social interaction* (SI) 試験の実施および *Golgi cox* 染色法を用いて背側海馬の錐体細胞先端樹状突起棘密度を測定した。その結果、3wFS 群ではストレスを経験しない群 (NONFS 群) と比較して SI 試験において *hypersociability* 行動および海馬 CA3 領域の錐体細胞先端樹状突起棘密度の減少が認められた。またいずれの変化に対しても、*Fluvoxamine* の投与により改善がみられた。第 2 章では、背側海馬の投射先の 1 つである正中縫線核の 5-HT と *parvalbmin* (PV) 陽性細胞を可視化するため蛍光染色を行い、単位面積あたりの細胞数および細胞周径を計測した。その結果、3wFS 群ではストレスを経験しない群 (NONFS 群) と比較して、正中縫線核の PV 陽性細胞数および PV 陽性 5-HT 神経細胞数と細胞周径が減少し、いずれも *Fluvoxamine* の投与により改善がみられた。以上のことから、幼若期の罰刺激を模倣する痛み刺激によるストレスの経験は、成熟後のラットの社会行動を増加させ、その行動学的変化は背側海馬 CA3 の錐体細胞の形態学的変化および正中縫線核における 5-HT 神経系の変化が関与している可能性が示唆され、それらの変化に対してはストレス負荷後の *Fluvoxamine* 投与で改善されると考えられた。

質疑応答では、主査の岩永敏彦教授より、細胞周径計測に関して切片作製の際の細胞切断部位

に不均一が生じるのではないかと質問がなされた。この質問に対しては1つの画像の中にはいろいろな部分を切り取られた断面が含まれているが、1つの個体について4枚の切片を作製し、単位面積を揃えて平均値を解析に用いているため、測定法は妥当と考えていると回答した。副査の渡邊雅彦教授より、海馬CA3はコルチコステロン(CORT)受容体の発現が他の海馬領域と比較して少ないことがCORTに脆弱な理由であると考察していたが、逆にストレスに抵抗性があるのではないかと質問およびGABA作動性神経細胞のマーカーはPVよりむしろGABA合成酵素(GAD)が妥当ではないかと質問があった。前者の質問に対しては、CORTによる細胞の障害は、CORT受容体を介するだけではなく、CORT値上昇によるグルタミン酸やCaイオンなどが細胞内への流入が増加することによる細胞毒性が高まると考えられると回答し、後者の質問に対しては先行研究では背側縫線核において、GAD67とPVの共発現率が高いことが確認されており、またPVの方が明瞭に染色され定量解析しやすいとのことから、PVをマーカーとして用いることにしたと回答した。副査の田中伸哉教授より、SSRIが効いたということは、5-HT受容体KOマウスを用いるとこのような現象は起こらないのかとの質問および今回海馬で見られた錐体細胞の異常は微小な樹状突起の異常であるが、長期的には細胞の脱落が起こる可能性はあると考えるかとの質問があった。前者の質問に対しては、例えば5-HT1A受容体のKOマウスを使用すると、海馬だけではなくその他の脳領域に発現する5-HT1A受容体も作動なくなり、どの脳部位に作用しているのかわからないため、本研究と同様の現象が確認されるかどうかは不明であると回答し、後者に対しては、先行研究で3wFS群の成熟後のCORT基礎値およびストレス負荷後いずれもNONFSと有意な差はなく、ストレスを経験直後から生後10週齢までの間にCORTが劇的に上がったとは考えにくいいため、その間にスパイン密度が減少したのではなく5日間の幼若期ストレスの際に減少したと考えられることから、10週齢以降も脱落することなく数が減少したまま推移する可能性があるかと回答した。副査の久住一郎教授より、今回は身体的虐待に近い痛み刺激によるストレスであるが、ネグレクトのモデルとも言える母子分離ストレスでも同様の脳部位に類似の変化が起こるのかとの質問およびFluvoxamineの投与時期がストレスを加えた直後というのは臨床応用が厳しいため、成熟後の行動試験直前に投与した場合の改善可能性についての質問があった。前者の質問については、母子分離ストレスを経験したラットが成熟後にストレスに対する脆弱性が高くなり、ストレスに暴露した際に母子分離ストレスを受けていない群よりは変化しやすいとの報告があるが、母子分離ストレスだけの影響で樹状突起が減少したとの報告は見られないと回答し、後者の質問についてはSSRIの投与により脳由来神経栄養因子の発現を上昇させ、そのことが樹状突起棘の形成に寄与すると考えると、幼若期だけではなく成熟後に投与したとしても回復する可能性はあるため、今後も薬物投与の時期について検討していく必要があると考えるかと回答した。

この論文は幼若期にストレスを負荷されたラットでは成熟後に社会性行動障害を引き起こし、その治療として薬理的介入の可能性を検証した論文として高く評価され、今後の研究により社会性行動障害の病態解明および有効な治療法の開発に資することが期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、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十分な資格を有するものと判定した。