

平成 22 年 6 月 7 日現在

研究種目：若手研究 (B)
 研究期間：2007～2009
 課題番号：19790069
 研究課題名 (和文) ストレス適応の形成ならびに破綻機構における 5-HT₇ 受容体の機能的役割の解明
 研究課題名 (英文) Elucidation of the functional role of 5-HT₇ receptors on the formative or disruptive mechanisms of stress adaptation
 研究代表者
 辻 稔 (TSUJI MINORU)
 国際医療福祉大学・薬学部・准教授
 研究者番号：70297307

研究成果の概要 (和文)：5-HT₇ 受容体拮抗薬の脳室内投与は、マウスのストレスへの適応能を障害し、不安感受性の低下や衝動性の亢進を示唆する異常行動を誘発した。また、ストレスへの適応が形成されたマウスの脳内では、5-HT₇ 受容体の発現量および ERK のリン酸化レベルの上昇が認められた。これらの変化はともに、5-HT₇ 受容体拮抗薬の脳室内投与によりストレスへの適応が障害されたマウスでは消失していた。したがって、ストレス適応の形成において、脳内 5-HT₇ 受容体-ERK 連関係が重要な役割を担っている可能性が示唆された。

研究成果の概要 (英文)：Intracerebroventricular (i. c. v.) injection of the selective 5-HT₇ receptor antagonist disrupted the ability of mice to adapt to stress, and then induced the abnormal behaviors that reflect the low anxiety and/or high impulsivity. Also, increases in 5-HT₇ receptor proteins as well as ERK phosphorylation were observed in mice that have been adapted to stress. These biochemical changes disappeared in mice that have not been adapted to stress by i. c. v. injection of the selective 5-HT₇ receptor antagonist. It is therefore suggested that brain 5-HT₇ receptor-ERK system may play an important role on the mechanisms of stress adaptation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,300,000	0	1,300,000
2008 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2009 年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	570,000	3,770,000

研究分野：神経精神薬理学

科研費の分科・細目：薬学・生物系薬学

キーワード：ストレス、適応、5-HT₇ 受容体、ERK、マウス、ストレス性精神疾患

1. 研究開始当初の背景

元来、生体は、外界からのストレス刺激に

適応し、恒常性を維持するための生理機能を有しているが、この機能の減弱や破綻が、

様々なストレス性疾患の発症に関係していると考えられる。したがって、ストレス刺激に対する生体の恒常性維持に関与する脳機能を考究することは、気分障害をはじめとする種々のストレス性精神疾患の発症要因や予防因子を明らかにするための重要な課題である。我々は、以前の研究において、生体がストレスに適応するためには、脳内セロトニン (5-HT) 神経系の情報伝達が重要であることを示唆する知見を得ている。一方、5-HT 受容体は、5-HT₁ から 5-HT₇ の 7 種のタイプに大別され、さらにこれら受容体タイプにはサブタイプが存在することが知られている。これまでに、情動性の調節機構との関連性が示唆されてきた受容体は 5-HT₁ および 5-HT₂ 受容体であり、その他の受容体タイプの関与については不明な点が多い。5-HT₇ 受容体は、5-HT 受容体ファミリーの中で最も新しく発見された受容体タイプであり、情動性の調節や精神疾患の発症に重要と考えられる脳部位に高密度に発現しているものの、その生理的意義についてはほとんど解明されていない。近年、5-HT₇ 受容体に対して選択的な拮抗薬が開発されたことにより、本化合物を用いて 5-HT₇ 受容体の生理的役割を薬理的に検討することが可能となった。

2. 研究の目的

本研究では、ストレス適応の形成ならびに破綻機構における 5-HT₇ 受容体の機能的意義を明らかにし、ストレス性精神疾患治療薬の開発を試みる上でのターゲット分子としての 5-HT₇ 受容体の有用性を提言することを目的として、以下の検討を行った。

- (1) ストレス適応モデルマウスの作成と、本モデルマウスの行動学的特徴の解析
- (2) ストレス適応形成に対する選択的 5-HT₇ 受容体拮抗薬の効果の解析
- (3) ストレス適応モデルマウスの脳内における 5-HT₇ 受容体機能の解析

3. 研究の方法

(1) ストレス適応モデルマウスの作成

マウスに拘束ストレス刺激 (60 分間) を 1 日 1 回 7 日慢性負荷し、連日、体重増加率、摂食量、摂水量を測定した。また、最終ストレス刺激負荷直後では、情動性の評価と脳組織の摘出を行った。拘束ストレス刺激の急性負荷時では、体重増加率、摂食量および摂水

量の低下や情動性の変化などのストレス反応が惹起されるが、慢性負荷によりこれらストレス反応が減弱あるいは消失することをストレス適応の形成の指標とした。

(2) 情動性の評価

ホールボード試験 (情動行動全般の評価法)、高架式十字迷路試験および明暗試験 (不安様行動の評価法)、尾懸垂試験 (抑うつ様行動の評価法) を用いて、上記 (1) で作成したストレス適応モデルマウスの情動性の特徴について多角的に検討した。

(3) 選択的 5-HT₇ 受容体拮抗薬の効果の解析

拘束ストレス刺激 (60 分間) の慢性負荷期間を通じてマウスの脳室内に選択的 5-HT₇ 受容体拮抗薬である SB269970 を投与し、上記 (1) の方法に準拠して、マウスのストレス刺激に対する適応能力の変化を検討した。

(4) 5-HT₇ 受容体機能の解析

上記 (1) で作成したモデルマウスの各種脳部位 (大脳皮質、視床下部、扁桃体、海馬、中脳) 組織を用いて、5-HT₇ 受容体の発現量および本受容体と関連する細胞内情報伝達系の 1 つである ERK のリン酸化レベルを、ウェスタンブロット法により検討した。また、モデルマウスの脳のスライス切片を作成し、各種脳部位における 5-HT₇ 受容体およびリン酸化 ERK の局在を、免疫組織化学的手法により検討した。

4. 研究成果

マウスに拘束ストレス刺激を負荷することにより、体重増加率、摂食量および摂水量の低下や、不安様行動 (図 1A) および抑うつ様行動の増強などの、急性ストレス反応が観察された。これらのストレス反応は、拘束ストレス刺激の慢性負荷により消失し、ストレス適応の形成が認められた (図 1B)。したがって、マウスに拘束ストレス刺激を慢性負荷することにより、ストレス適応モデルを作成できることが明らかとなった。

拘束ストレス刺激の慢性負荷期間中に SB269970 を脳室内投与したマウスではストレス適応の形成が認められず、ストレス適応形成の指標である体重増加率、摂食量および摂水量の低下の消失の発現が遅延した。また、情動性の適応も形成されず、むしろ不安感受性の低下や衝動性の亢進を示唆する異常行動が発現した (図 1B)。

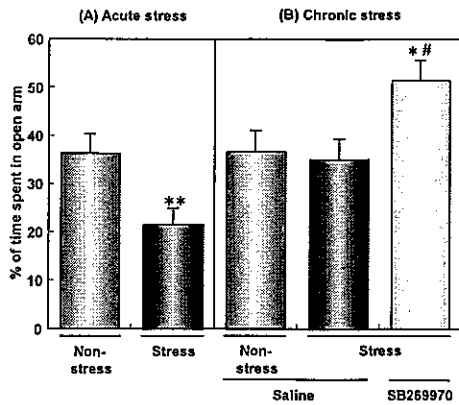


図1 マウスのストレスに対する情動的適応に及ぼす選択的5-HT₇受容体拮抗薬の影響

ウェスタンブロット法を用いて、ストレス適応を形成したマウスの各種脳部位（大脳皮質前頭部、海馬、扁桃体、視床下部、中脳）における5-HT₇受容体の発現量およびERKのリン酸化レベルを定量したところ、ともに大脳皮質前頭部および海馬において有意な上昇が認められた。一方、これらの変化は、SB269970の脳室内投与によりストレス適応が障害されたマウスから得られた脳組織では認められなかった（図2）。また、免疫組織化学的手法を用いた検討では、大脳皮質前頭部および海馬において、5-HT₇受容体とリン酸化ERKの共局在が確認された（図3）。

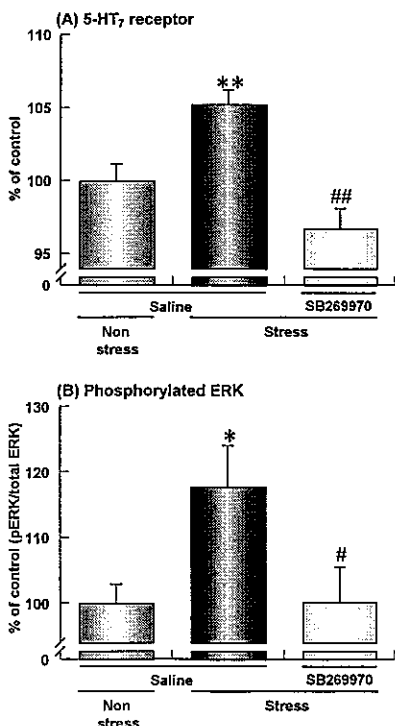


図2 ストレス適応マウスの大脳皮質前頭部における5-HT₇受容体およびリン酸化ERKの変化に及ぼすSB269970の影響

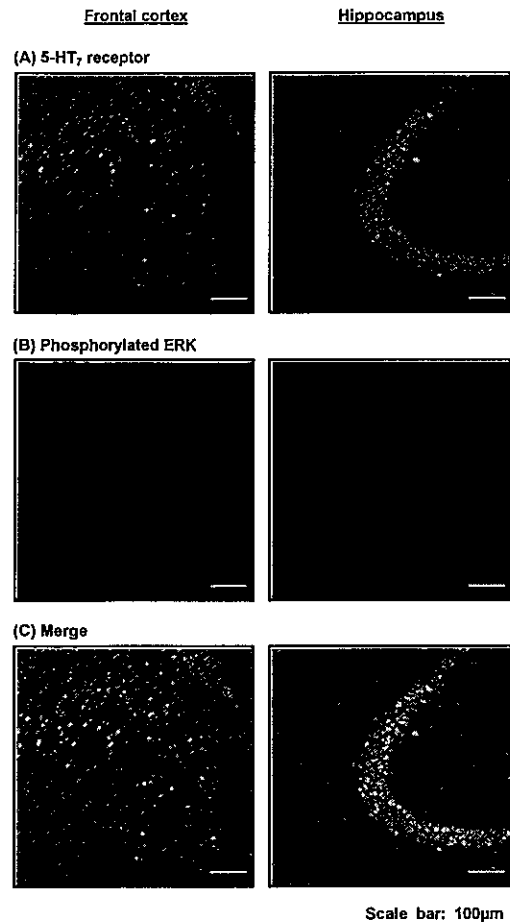


図3 大脳皮質前頭部および海馬における5-HT₇受容体およびリン酸化ERKの共局在

以上、本研究の結果より、ストレス適応の形成機構において大脳皮質前頭部および海馬における5-HT₇受容体-ERK連関系が重要な役割を担っており、この機構の障害が慢性ストレス状況下で出現する情動異常の一因となっている可能性が示唆された。今後の5-HT₇受容体に着目した研究のさらなる推進が、うつ病や不安障害をはじめとする各種ストレス性精神疾患の病態生理の解明や、これら疾患に対する新たな治療戦略の開発の一助となることを期待する。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計5件)

- ① 辻 稔, 竹内智子, 宮川和也, 竹井由紀, 藤森完爾, 武田弘志. ストレス適応に関する脳内メカニズム～5-HT₇受容体を中心に～. ストレス科学, 2010, 印刷中,

査読有.

- ② 辻 稔, 宮川和也, 竹内智子, 大出浩子, 武田弘志. PTSD の病態解明を目的とした恐怖記憶の消去機構における 5-HT₇ 受容体の役割に関する研究. 国際医療福祉大学紀要 14, 155-156, 2009, 査読無.
- ③ Matsushita K, Tahara M, Tsuji M, Takeda H, Matsumiya T, Iimori M. Role of 5-HT₇ receptors in context- and tone-dependent fear conditioning in mice. J Tokyo Med Univ 67, 326-333, 2009, 査読有.
- ④ 辻 稔, 宮川和也, 竹内智子, 大出浩子, 武田弘志. ストレス適応機構における 5-HT₇ 受容体の生理的意義の解明. 国際医療福祉大学紀要 13, 96-97, 2008, 査読無.
- ⑤ 竹内智子, 武田弘志, 辻 稔. 情動調節機構における 5-HT₇ 受容体の役割の解明. 国際医療福祉大学紀要 12, 132, 2007, 査読無.

[学会発表] (計 5 件)

- ① 辻 稔, 竹内智子, 宮川和也, 武田弘志. ストレス適応に関与する脳内メカニズム—5-HT₇ 受容体を中心に—. 第 25 回日本ストレス学会学術総会, 2009 年 12 月 5 日, 横浜市開港記念会館 (神奈川県).
- ② Tsuji M, Takeuchi T, Takei Y, Fujimori K, Miyagawa K, Takeda H. Blockade of Brain 5-HT₇ receptors under the stressful condition induces the emotional abnormality in mice. 第 1 回アジア神経精神薬理学会/第 39 回日本神経精神薬理学会, 2009 年 11 月 13 日, 京都国際会議場 (京都府).
- ③ 竹内智子, 辻 稔, 宮川和也, 武田弘志. 脳内 5-HT₇ 受容体機構の抑制により誘発されるストレス適応障害. 第 24 回日本ストレス学会学術総会, 2008 年 11 月 1 日, 千里ライフサイエンスセンター (大阪).
- ④ 辻 稔, 宮川和也, 竹内智子, 武田弘志. ストレス適応形成に及ぼす選択的 5-HT₇ 受容体拮抗薬 SB269970 の脳室内投与の影響. 第 18 回日本臨床精神神経薬理学会, 第 38 回日本神経精神薬理学会合同年, 2008 年 10 月 3 日, 品川プリンスホテル(東京).
- ⑤ 辻 稔, 宮川和也, 竹内智子, 武田弘志.

ストレス適応機構における脳内 5-HT₇ 受容体の関与. 生体機能と創薬シンポジウム 2008, 2008 年 9 月 6 日, 星薬科大学(東京).

6. 研究組織

(1) 研究代表者

辻 稔 (TSUJI MINORU)

国際医療福祉大学・薬学部・准教授

研究者番号: 70297307

(2) 研究分担者

(なし)

(3) 連携研究者

(なし)