

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 15 日現在

機関番号：32666

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24791236

研究課題名(和文) ADHD病態におけるシナプス機能異常の電気生理学的検討および治療薬の探索

研究課題名(英文) The investigation of pathophysiological synaptic dysfunction and exploration of therapeutic drug in ADHD.

研究代表者

佐藤 寛栄 (SATO, Hiromasa)

日本医科大学・医学部・助教

研究者番号：50386744

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：ADHDモデル動物と対照動物を用いて、ドーパミン(DA)とノルアドレナリン(NA)がGABA作動性抑制性シナプス後電流(IPSC)にもたらす修飾作用を前頭前野第五層錐体細胞と小脳プルキンエ細胞で検討した。その結果、DAの投与により前帯状回(anterior cingulate cortex)で記録したIPSCの振幅は増強されたが、その程度は対照動物では大きくADHDモデル動物では有意に小さかった。薬理学的実験からこの増強効果はD1様受容体を介していることがわかった。一方、NAによる修飾効果は錐体細胞とプルキンエ細胞ともに有意差を認められなかった。

研究成果の概要(英文)：This study, we examined the effect of dopamine (DA) and noradrenaline (NA) on the GABAergic transmission of layer V pyramidal cells in the medial prefrontal cortex (prelimbic cortex and anterior cingulate cortex; ACC) and Purkinje cells in the cerebellum using ADHD model and control rats. We found that the application of DA caused the enhancement of IPSC amplitude which is larger in control than in ADHD model rats recorded in ACC region. Pharmacological studies revealed that the enhancement is mediated by the activation of D1-like receptors. On the other hand, there were no differences the effect of NA application on IPSC amplitude which recorded in pyramidal and Purkinje cells.

研究分野：精神神経科学

キーワード：ADHD SHR 神経伝達 シナプス

1. 研究開始当初の背景

注意欠陥・多動性障害(注意欠如・多動症; ADHD)は不注意・衝動性・多動性の三つを中心とした症状を特徴とする発達障害である。これまでは成長に伴い改善されるものと考えられてきたが、近年は成人でも感情の衝動性や注意力・集中力の欠如として症状が残るものと認識されてきている。学齢期児童の数%が罹患しているものと考えられ、学級に一人程度の罹患率は級友達の学習へも影響をもたらす問題となっている。ADHDの生物学的要因は不明であるものの遺伝が重要な要因であることが明らかになってきている。また、解剖学的特徴として前頭前野、小脳虫部、大脳基底核(尾状核・淡蒼球)が有意に萎縮していることが知られている。ADHDモデル動物のひとつであるドーパミントランスポーター(DAT)を欠損させたマウスはヒトと同様に中枢刺激薬メチルフェニデートの投与で症状が改善する。この結果はADHDの症状がドーパミン(DA)神経系の機能障害に由来することを示唆している。興味深いことに、DAT欠損マウスでDAT阻害薬であるメチルフェニデートが有効であるのは前頭前野のノルアドレナリントランスポーター(NAT)がDA再取り込みに関与しているためであるとされている。これはNAT阻害薬であるアトモキセチンの投与でも症状が改善されることから伺える。ところが、米国の臨床現場では α_2 作動薬であるクロニジンの投与によってADHD様症状が改善されるとの報告もあり、これは他のADHDモデル動物として知られる高血圧自然発症ラット(Spontaneously Hypertensive Rat)でも同様に有効である(Arime et al, Biol Pharm Bull 2011)。これらの知見からADHDはDA神経の異常だけに由来するのではなく、DA神経とノルアドレナリン(NA)神経の相対的な関係が変化することによって引き起こされるものではないかと考えた。多動性・衝動性という症状から想起されるように患者の脳回路では抑制性機能が低下していると考えられる。実際GABA_A受容体 α_3 サブユニットを欠損し、機能を低下させたマウスは多動を示す(Yee et al., PNAS 2005)。このマウスの神経細胞から記録されるGABA誘発性電流は野生型のそれより有意に振幅が減少している。また、正常なラットの前頭前野の錐体細胞ではGABA作動性抑制性シナプス後電流(IPSC)はDAやNAによって修飾を受けることが知られている(Kawaguchi and Shindou, J Neurosci 1998, Seamans et al., J Neurosci 2001)。これらのことから、ADHD患者では神経細胞でのIPSCがDAやNAの修飾により健常者より弱まっている可能性があると考えた。ADHDの病態においてシナプスレベルでの検討は報告がなく、これを明らかにできれば効率的な治療薬を提案できるものと考えた。

2. 研究の目的

本研究はDAとNA神経伝達の比率変化が前頭前野、小脳虫部、大脳基底核などのADHDで解剖学的特徴を示す部位で起こっていることが病因であることを明らかにする。

3. 研究の方法

電気生理学的手法を用い、前頭前野第五層錐体細胞および小脳プルキンエ細胞で記録されるIPSCがDAやNAにより受ける修飾効果を検討する。SHRをADHDモデル動物、WKYを対照動物として雄ラットを用いた。二週齢と四週齢のラットからスライス標本を作製し、各神経細胞にホールセルパッチクランプ法を適用してIPSCを記録した。前頭前野第五層錐体細胞の記録はカリウム主体の電極内液を用いて行った。細胞の同定はホールセル直後に電流注入し、発火パターンを確認することで行った。一方、小脳プルキンエ細胞の記録はセシウム主体の電極内液を用いて行った。細胞の同定は層構造での位置と細胞体の大きさから行った。IPSCは記録している細胞の近位を電気刺激することで誘発した。細胞外液にキヌレン酸を添加することでグルタミン酸作動性興奮性シナプス後電流を遮断した。

4. 研究成果

前頭前野

前頭前野内側部(medial prefrontal cortex)では前辺縁皮質(prelimbic cortex; PL)と前帯状回(anterior cingulate cortex; ACC)の第五層錐体細胞から記録した。二週齢で記録したPL第五層錐体細胞でのIPSCの振幅はDAの投与により抑制された(図1)。興味深いことに、四週齢で記録するとPL第五層錐体細胞でのIPSCの振幅はDAの投与により増強された(図2)。しかしながら、二週と四週齢のラットではWKYとSHRとの間でDAによる修飾効果の程度に有意差は見られなかった。ところが、四週齢においてPLに隣接するACC第五層錐体細胞から記録したIPSCの振幅はDAの投与によりWKYでは大きく増強されたが、SHRではその増強の程度は有意に小さかった(図3)。薬理学的実験から、この増強効果はD1様受容体(D1R)拮抗薬存在下で消失し(図4)、D2様受容体(D2R)拮抗薬存在下では消失しなかった(図5)。さらに、D1R作動薬で増強効果が見られ(図6)、D2R作動薬では増強効果が見られなかった(図7)。これらのことから、ACC第五層錐体細胞におけるDAによるIPSCの振幅増強効果はD1Rを介していることが示唆された。

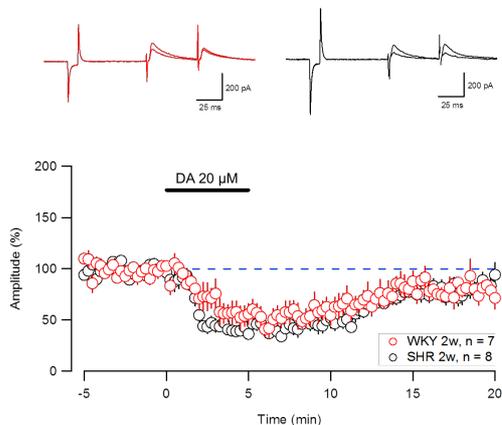


図1 PLでのDAによるIPSCの抑制作用．
二週齢での記録．

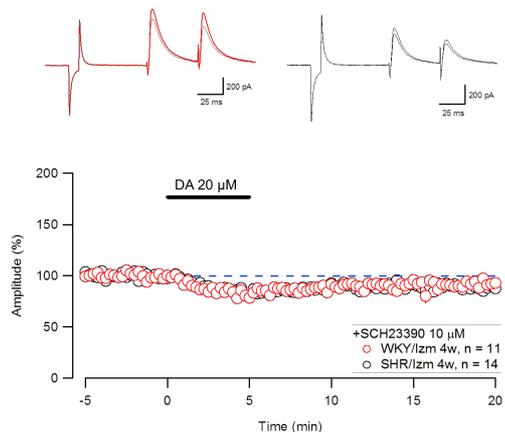


図4 ACCでのDAによるIPSCの修飾作用．
D1R拮抗薬存在下，四週齢での記録．

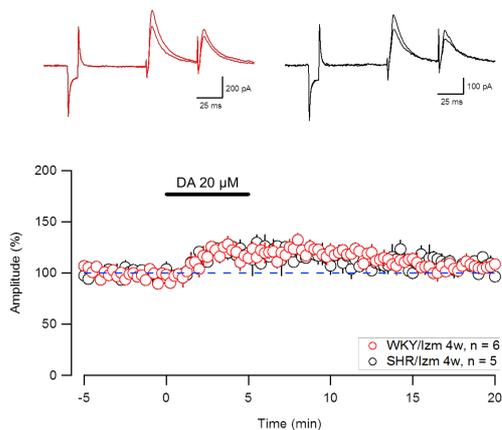


図2 PLでのDAによるIPSCの増強作用．
四週齢での記録．

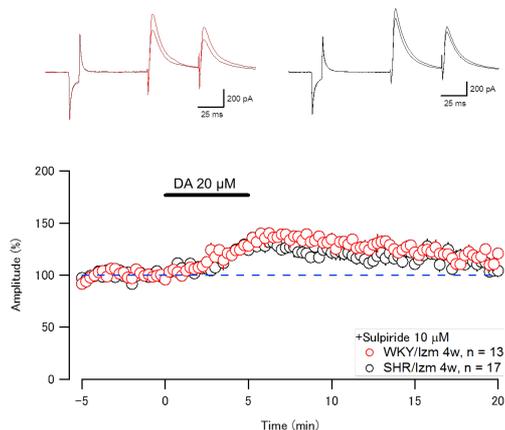


図5 ACCでのDAによるIPSCの修飾作用．
D2R拮抗薬存在下，四週齢での記録．

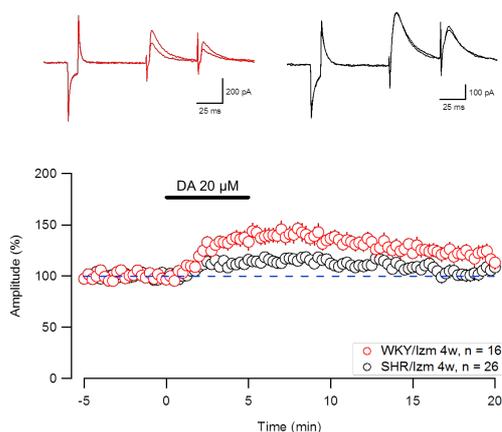


図3 ACCでのDAによるIPSCの増強作用．
四週齢での記録．

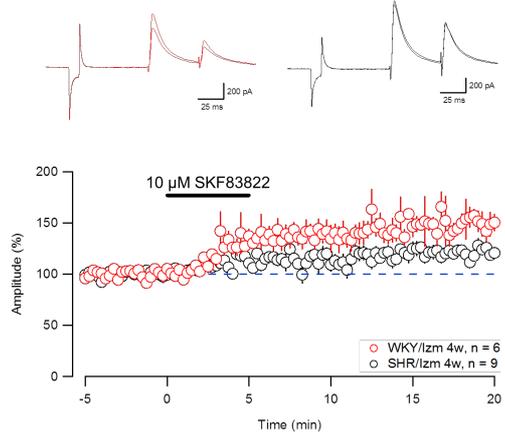


図6 ACCでのD1R作動薬の修飾作用．
四週齢での記録．

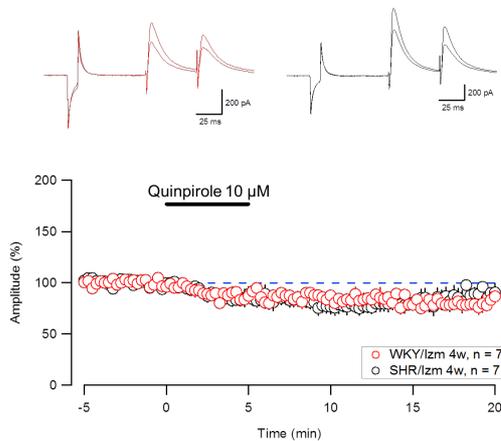


図7 ACCでのD2R作動薬の修飾作用．
四週齢での記録．

一方,NAによるIPSCの修飾効果は四週齢のPLとACCにおいて振幅の増強傾向にあったが,WKYとSHRとの間に有意差は認められなかった(図8・9)．

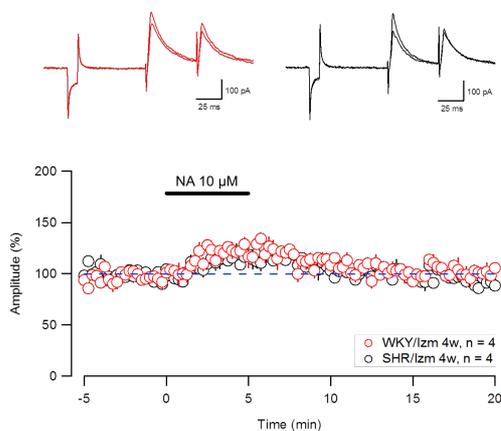


図8 PLでのNAによるIPSCの修飾作用．
四週齢での記録．

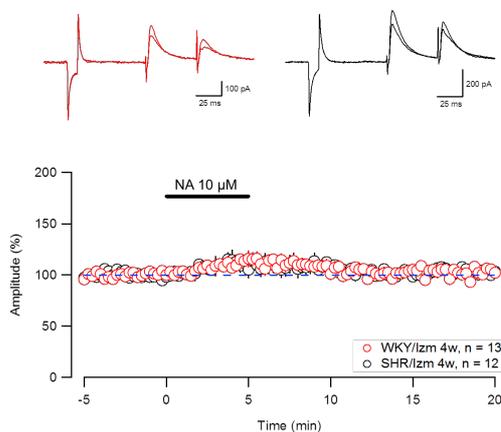


図9 ACCでのNAによるIPSCの修飾作用．
四週齢での記録．

小脳

四週齢のラット小脳プルキンエ細胞でのIPSCはアドレナリン受容体作動薬の投与により振幅が増強された．しかし,WKYとSHRとの間には有意差は認められなかった(図10)．

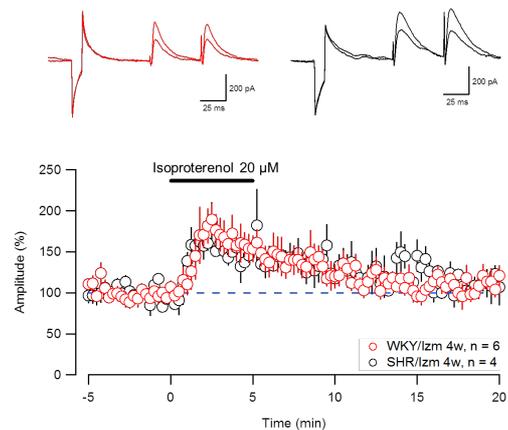


図10 小脳での作動薬による修飾作用．
四週齢での記録．

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 1 件)

Satoh H, Qu L, Suzuki H, Saitow F. Depolarization-induced depression of inhibitory transmission in cerebellar Purkinje cells. *Physiological Reports* 1: e0061Page1-16 (2013) DOI 10.1002/phy2.61 査読有

〔学会発表〕(計 2 件)

Satoh H, Saitow F, Suzuki H. Novel form of depolarization-induced depression of GABAergic IPSCs in the Purkinje cells. 第44回米国神経科学会議 2014.11.14-19 ワシントンDC

佐藤寛栄, 齋藤文仁, 鈴木秀典 プルキンエ細胞における脱分極によるGABAシナプスの可塑性(Novel form of depolarization-induced synaptic plasticity of GABAergic transmission in the Purkinje cells.) 第91回日本生理学会大会 2014.03.16-18 鹿児島

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐藤寛栄 (SATOHI Hiromasa)
日本医科大学・医学部・助教
研究者番号: 50386744