

論文審査の結果の要旨

論文提出者氏名：伊藤浩志

本論文「マウスの行動および前部帯状回シナプス機能に与える慢性ストレスの影響 (The effects of chronic stress on behavior and synaptic function in the anterior cingulate cortex in mice)」は、1 週間におよぶ拘束ストレスがマウスの情動行動および大脳皮質前部帯状回シナプス活動に及ぼす影響を行動学および電気生理学的に解析したものである。ヒトの精神疾患や心身症は、遺伝的素因の他に様々な身体的心理的ストレス負荷の影響を受けて発症または症状の増悪が起こる。前部帯状回は、痛みや葛藤などを含む認知や情動性の行動選択に深くかかわる辺縁系脳組織であり、様々な精神疾患で形態的、神経化学的所見が報告されている。しかしこれまで慢性ストレスによる影響に関し、動物行動変化と脳内シナプス機能を対応させて調べた研究は海馬や扁桃体に注目したものがほとんどであり、前部帯状回においてどのようなシナプス機能の変化が起こるかは不明であった。そこで本研究では、4 週齢という比較的若いマウスに対し一日 2 時間の拘束ストレスを 7 日間与え、その影響をストレス負荷終了翌日から行動学および脳スライスを用いた電気生理学的解析に供した。

行動上では、オープンフィールド試験においてコントロール群に比較し総移動距離が増加した。これは中央部での行動量増加を伴い、また試験箱に投入後始めの 10 分間においてのみ顕著であった。不安様行動の指標を与える明暗選択テストでは、暗箱での滞在時間等に変化はなく、不安状態は高まってはいると判断された。床から電気ショックを与えることで状況（ケージ）または音刺激依存的恐怖学習を検査したが、無動（フリーズング）で示される恐怖記憶現象はコントロール群に比べ低下していた。これらの結果をまとめて説明するには、新奇事象に対する活動の亢進を背景とした多動ということで要約されると解釈される。

一方、これらと並行して慢性拘束ストレス負荷後の別個体群について前部帯状回脳スライスを作成し、シナプス機能を検討した。帯状回皮質深部層電気刺激により浅層に誘発されるシナプス電位を、細胞外記録およびホールセルパッチによる細胞内記録にて観察した。細胞外記録によるフィールド EPSP（フィールド興奮性シナプス後電位、fEPSP）の刺激 - 反応強度関係にコントロール群とストレス群間の差はなく、基本的な興奮性は変化がないと考えられた。しかし fEPSP の時間幅はストレス群で延長しており、神経伝達後半に貢献する抑制性伝達が減弱している可能性が示唆された。そこでホールセルパッチ記録によりガンマアミノ酪酸 (GABA) を抑制性神経伝達物質とする自発性の微小抑制性シナプス後電流 (mIPSC) を解析したところ、平均的な振幅の変化はないまま発生頻度の減少が認めら

れた。一方微小興奮性シナプス後電流 (mEPSC) に関しては両群で差がなかった。また誘発刺激による EPSC (興奮性シナプス後電流) の大きさ、さらにその中の NMDA 型グルタミン酸受容体成分について差がなかった。よって、慢性拘束ストレスは興奮性伝達そのものには影響しないが、GABA 作動性抑制性伝達を減弱させることが示唆された。

以上の知見のもとに短期並びに長期シナプス可塑性を検討したところ、50–100 ms の間隔での 2 発連続刺激時に 2 発目の fEPSP または EPSC が増大することが観察され、これは 1 発目刺激で誘発される GABA 抑制減弱の結果であることがわかった。またシータバースト刺激、低頻度刺激を条件刺激として発生させた fEPSP の長期増強 (LTP) ならびに長期抑圧 (LTD) は、条件刺激 30 分後の変化率についていずれもストレス群でコントロール群に比し変化率が增大しており、これも脱抑制の結果として皮質浅層の興奮性増大が起こったためと考えられた。

さらに、行動量亢進に対しての関与が考えられるドーパミン機能を検討するため、深部層刺激 - 浅層記録 fEPSP に対するドーパミン灌流の効果を観察した結果、コントロール群において見られたドーパミンの fEPSP 抑制効果がストレス群では見られなかった。このことは、ストレス負荷により生体内でドーパミンが過剰放出され、その結果ドーパミン受容体がダウンレギュレーションされたと解釈することが可能である。

最後にストレス時の GABA 作動性抑制性伝達機能の減弱を意味する mIPSC 頻度低下に関し、前部帯状回の左右両半球での比較を行ったところ、コントロール群に比して頻度低下を示したのは右前部帯状回であり、左前部帯状回では両群間で差がなかった。

以上のように、伊藤浩志氏の論文は、慢性拘束ストレスがもたらす影響を行動面と前部帯状回シナプス機能の両面から解析し、行動量亢進と前部帯状回抑制性神経機能低下に関連があることを示唆したものであり、加えて左右脳半球間のストレス脆弱性の差をミクロなシナプス機能レベルで定量的に明らかにした点で極めてユニークな研究である。この知見はヒトが身体活動ならびに精神機能の健康健全な保全を目指す上で非常に有益なものであると考えられ、本審査委員会は全員一致して、博士 (学術) の学位を授与するにふさわしいと認定した。