

氏名	いしだ ひさ ひと 石田 寿人
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲第546号
学位授与年月日	平成18年 3月10日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Subchronic treatment with imipramine ameliorates the decreased number in neuropeptide Y-positive cells in the hippocampus of learned helplessness rats (イミプラミンの亜慢性投与は学習性無力ラットの海馬におけるニューロペプチドY陽性細胞の減少を改善する)
学位論文審査委員	(主査) 中込和幸 (副査) 中島健二 渡辺高志

学位論文の内容の要旨

ニューロペプチドY (NPY) はうつ病の発症や抗うつ薬の薬効機序との関連性が指摘されている。動物研究においても、NPYの抗うつ作用が示されている。海馬はうつ病の発症に関連する領域の一つに挙げられ、うつ病モデルラットにおいて海馬におけるNPYの量の減少が報告されている。NPY陽性細胞は海馬歯状回、顆粒細胞下帯に存在し、その多くは介在ニューロンであることが知られている。また、カルシトニン遺伝子関連ペプチド(CGRP)陽性細胞は介在ニューロンの一つである苔状細胞であることが知られている。今回、海馬におけるNPYとCGRP陽性細胞の学習性無力ラット(うつ病モデルラット)における変化とそれらの抗うつ薬に対する反応性について、免疫組織学的方法を用いて検討した。

方法

実験にはSprague-Dawley系雄性ラットを用いた。まず、拘束ストレスラットについては、ラットを3時間の無動ストレスに曝した後に灌流固定を行った。次に、学習性無力ラットについては、2日連続で60回、0.65mAの電気刺激を与え、3日目に能動型回避試験を行い、30回の電気刺激に対して20回以上回避がみられなかったラットを学習性無力ラットと定義づけた。4日目、学習性無力ラットに30回、0.65mAの電気刺激を追加し、6日目に灌流固定を行った。また、何らストレスを加えなかった無処置ラットを対照群として用いた。さらに、上記とは別に、学習性無力ラットの作成5日目より生理的食塩水あるいはイミプラミン(20mg/kg)のいずれかを1週間腹腔内投与後、灌流固定した。免疫染色法については、まず、ラットを4%パラホルムアル

デヒドにて灌流固定を行い、断頭機を用いて脳実質を取り出した後、スクロースにて保存し、マイクロトームを用いて 35 μm にて切片化し、海馬の切片を作った。次に、free floating 法を用いて NPY 抗体、CGRP 抗体を ABC 法にて免疫染色を行い、顕微鏡下 (400 \times) にて海馬歯状回門領域における NPY、CGRP 陽性細胞をカウントした。

結 果

対照条件と比較して、海馬歯状回門の領域で学習性無力ラットにおいて NPY 含有細胞の発現減少が認められたが、拘束ストレスラットでは有意な変化は観察されなかった。学習性無力ラットにイミプラミンを投与した群においては、生理的食塩水を投与した群と比較して海馬歯状回門での NPY 含有細胞の減少が緩和されていたが、無処置ラットにイミプラミンを投与しても生理的食塩水を投与した群と比較して海馬歯状回門での NPY 含有細胞数の変化は認められなかった。一方、海馬歯状回門において、CGRP 陽性細胞は学習性無力ラット群と対照群との間に有意な差は認められなかった。

考 察

うつ病モデルとして用いられる学習性無力ラットにおいて NPY 含有細胞の発現減少が認められたことは、うつ病の病態への NPY の関与を強く示唆する。強いストレスは、海馬での細胞死を引き起こす可能性が指摘されており、NPY 含有細胞の発現減少は細胞死を反映している可能性がある。また、学習性無力ラットに対する抗うつ薬の亜慢性投与が海馬 NPY 含有細胞の発現減少を緩和することについては、先行研究の結果と一致する。一方、細胞数の増加は神経細胞新生を示唆するが、通常神経細胞新生は海馬の顆粒細胞下帯に認められることが知られており、今回細胞数の増加が示唆された領域と一致しない。さらに、無処置ラットに対してイミプラミンの効果がみられなかったことから、神経細胞新生を介した変化とは考えにくく、学習性無力ラットにおける NPY 含有細胞の減少を代償するような作用をイミプラミンがもつことが示唆された。

CGRP 陽性細胞については、学習性無力ラットにおいて、有意な変化は認められなかった。歯状回門において CGRP 陽性細胞は苔状細胞を表すことが知られており、近年、ピロカルピンによって誘発されたてんかん状態においても、海馬歯状回門の苔状細胞の減少は認められなかったと報告されている。海馬歯状回門の苔状細胞はうつ病に関連する神経毒性に対しても抵抗性がある可能性がある。

結 論

学習性無力ラットの海馬歯状回では、NPY 含有細胞の発現減少が認められたが、拘束ストレスラットでは変化が認められなかった。また、抗うつ薬によって、NPY 含有細胞の発現減少が緩和されることが示され、NPY がうつ病の病態と関連する可能性が示唆された。

審 査 結 果 の 要 旨

本研究は学習性無力ラットを用いて、海馬におけるニューロペプチドYの変化をストレスモデルラットや無処置ラットと比較し、抗うつ薬に対する反応性についても検討したものである。その結果、ストレスモデルラットに比較して、うつ病モデルラットでは海馬ニューロペプチドY陽性細胞数の減少を認め、うつ病モデルラットにおいては、抗うつ薬投与により海馬ニューロペプチドY陽性細胞数減少の回復効果を認めることが示された。本論文の内容は、精神医学においてうつ病の病態や抗うつ薬の作用機序を究明する上で病態関連部位の一つとしての海馬の役割、とくにニューロペプチドYの特異性を示唆するものであり、明らかに学術水準を高めたものと認める。