

氏名	いわた まさ あき 岩田 正明
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲第547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	A study of dendritic marker, microtubule-associated protein 2(MAP-2), in rats neonatally treated neurosteroids, pregnenolone and dehydroepiandrosterone (DHEA) (新生仔期に神経ステロイド、プレグネノロンおよびデヒドロエピアンドロステロンを投与したラットにおける微少管結合蛋白質2、MAP-2の研究)
学位論文審査委員	(主査) 中込 和幸 (副査) 大浜 栄作 大野 耕策

## 学位論文の内容の要旨

脳に働くステロイドである神経ステロイドは、新生児期にも産生され未熟な脳に働き、脳神経系システムの構築に影響を与えていると考えられている。また、うつ病をはじめとする精神疾患においては脳内神経ステロイドの濃度に変化がみられ、治療にともないその変化が改善したとする報告もある。本研究では、神経ステロイドによる神経可塑的变化を明らかにすることを目的にして、新生仔期に神経ステロイドであるプレグネノロンおよびデヒドロエピアンドロステロン(DHEA)を投与したラットの思春期後の脳におけるMAP-2 (microtubule-associated protein 2: 樹状突起のマーカー) の変化を、免疫組織学的手法を用いて検討した。

### 方法

Sprague-Dawley 妊娠ラットを飼育して得た出産 24 時間以内の新生仔雄ラットを、コントロール群、プレグネノロン群、DHEA 群に分けた。生後 3 日から 7 日までの間、それぞれプレグネノロン 10  $\mu$ g/g、DHEA 50  $\mu$ g/g を皮下投与した。コントロール群にはゴマ油 5  $\mu$ g/g を投与した。7 週後に深麻酔下に 4%パラホルムアルデヒドで還流固定した後、厚さ 35  $\mu$ m の凍結切片を作成し、抗 MAP-2 抗体を用いて ABC 法により免疫染色した。

検索した前頭葉皮質、側坐核、線条体、扁桃核、海馬の 5 部位の免疫染色標本を用いて、それぞれの部位の光学密度を、CCD カメラで取り込んだ画像を NIH image 1.61 ソフトを用いて測定した。1 匹のラットの 1 部位につき 3 枚の切片を用い、左右計 6 箇所をその部位の測定値

とした。統計学的有意差は ANOVA を用い、ポストホック検定で検証した。

## 結 果

プレグネノロン、DHEA 投与群では、海馬と側坐核において MAP-2 の免疫反応の有意の増強を認めた。前頭葉皮質、線条体、扁桃体では有意差は認められなかった。さらに、この免疫反応の増強は部位特異性を示し、歯状回の顆粒細胞層と顆粒細胞下層、およびアンモン角 CA3 の錐体細胞層に局限していた。側坐核では全体で同様に増強していた。

## 考 察

本研究で、新生仔期のラットに神経ステロイドを投与することにより、脳の一定の部位で MAP-2 の発現が増強することが示された。MAP-2 は樹状突起に存在し、その発達や伸長に重要な役割を演じている。したがって、新生仔期に神経ステロイドを投与することにより、思春期後に海馬および側坐核で樹状突起の発達や伸長が増強されることが示唆される。

神経ステロイドは、GABA 系やドーパミン系あるいはセロトニン系神経の活性に影響を与えることが知られている。また、ドーパミンやセロトニンの再取り込みを阻害するコカインを出生前に投与すると、MAP-2 陽性樹状突起の発達が障害されることが示されている。これらのことから、本研究で認められた MAP-2 免疫反応の増強は、GABA 系やドーパミン系、およびセロトニン系の神経伝達に関連している可能性がある。

うつ病患者では DHEA が低下しており、DHEA の補充により症状が改善し、抗うつ薬の投与により DHEA レベルが上昇することが報告されている。また死後脳研究により、統合失調症患者の前頭葉皮質と海馬において MAP-2 発現の低下が示されている。統合失調症でみられる認知障害や行動障害の疾患モデル動物でも MAP-2 の変化が報告されている。海馬はグルココルチコイドレベルが上昇するような強いストレス条件下で障害を受けやすいことが知られており、側坐核は意欲と報酬に関与する。本研究で明らかにされた神経ステロイドによる海馬や側坐核における MAP-2 発現の増強は、ストレス応答や意欲などの精神活動に影響を及ぼす可能性も推測される。

## 結 論

新生仔期のラットにプレグネノロンまたは DHEA を投与すると、思春期後に海馬および側坐核において MAP-2 の免疫反応の増強が認められた。幼少期の神経ステロイドの変化は成熟後の精神疾患発症脆弱性と関連する可能性がある。

## 審 査 結 果 の 要 旨

本研究は、新生仔期ラットに神経ステロイド（プレグネノロンおよびデヒドロエピアンドロステロン）を投与し、思春期後に脳の MAP-2 免疫反応性を検討したものである。その結果、部位

特異的に海馬歯状回の顆粒細胞層と CA3 領域の錐体細胞層、および側坐核で MAP-2 免疫反応の増強が認められた。MAP-2 は主に神経細胞体および樹状突起に存在し、神経細胞の成長・樹状突起の伸展に重要な役割を演じている。本研究の内容は、脳神経発達段階における神経ステロイドの意義を明らかにし、精神疾患と神経発達障害との関連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。