

審査の結果の要旨

氏名 小野 秀明

本研究は、高齢者の脳における特徴の一であり、脳卒中発症、認知症やうつ病などの精神疾患の発症と関連する大脳白質病変に注目し、エンドセリン-1 (ET-1) を用いてラット大脳白質病変モデルを作製し、これを応用し、拘束ストレスを加え中高年発症うつ病モデルの開発を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 大脳白質病変を作製するためにET-1を内包に定位的に注入する際、針の穿刺する角度を20度、25度、30度と変え生存率を調べ、また20度と30度にて色素を注入しET-1の注入部位を確認したところ、20度では生存率が14%であったが、30度の時には100%生存し、また20度での穿刺時には色素が脳室内に入っており、30度の時には脳室から離れていることが示された。
2. 組織病理学的評価を行うため、大脳白質病変作製後3、24時間後、1、2、3週間後の脳切片を作製し、Hematoxylin and Eosin染色、Kluver-Barrera染色、アミロイド前駆蛋白 (Amyloid precursor protein)、ED1、グリア繊維性酸性蛋白 (Glial fibrillary acidic protein; GFAP) の免疫染色を行ったところ、ET-1注入後3時間の早期から軸索の損傷、髄鞘の障害が確認され、1週から3週後にはED1抗体陽性細胞が白質障害部位に出現・集簇を認め、2週後からはGFAP免疫染色陽性細胞が病変の周囲の領域に認められた。また、大脳白質病変の体積を測定したところ、平均1.83 mm<sup>3</sup>であることが示された。
3. 今回作製したラット大脳白質病変モデルの神経学的症状を、ladder testを行い経時的に評価したところ、白質病変を作製した左側と逆である、患側である右脚の機能が手術後1日の時点で低下するが、術後3日の時点では回復を認め、その後も明らかな運動機能の低下は認めないことが示された。また、健側である左脚に関しては、手術後明らかな運動機能の低下を認めないことが示された。
4. 作製した内包の白質病変により、傷害された軸索を有する神経細胞体が脳内のどの部位に存在するのかを明らかにするため、逆行性神経トレーサーであるFluoro-Gold (FG) を用いて評価したところ、FGは運動野などの皮質、基底核や視床に広く分布し、扁桃体や脳幹にも分布することが示された。一方、視床下部、海馬や嗅球への分布は認められなかった。
5. 大脳白質病変を作製したラットに対し1日2時間の拘束ストレスを13日間加え、中高年発症うつ病モデルの開発を試みた。体重に関して、ストレスをかけ始める前日からストレス最終日翌日にかけて、ストレスがあることによりラット体重増加が鈍化することが示された。また、大脳白質病変があることによりさらに体重変化が減少することが示された。
6. コルチコステロン濃度に関して、拘束ストレスにより7日目において上昇し、またその中でも大脳白質病変があると13日目にも上昇していることが示された。

7. 拘束ストレス最終日翌日に各種行動試験を行ったところ、大脳白質病変と拘束ストレスがあることにより、強制水泳試験の無動時間が延長することが示された。またオープンフィールド試験においては、大脳白質病変が無く、拘束ストレスがあることにより、自発運動量が減少することが示された。中央探索時間と、ショ糖嗜好性試験においては、大脳白質病変と拘束ストレスにより明らかな変化を認めなかった。
8. 選択的セロトニン再取り込み阻害薬であるエスシタロプラムを投与することにより、大脳白質病変と拘束ストレスによる体重増加量の減少が、回復することが示された。強制水泳無動時間に関しては著変なかった。

以上、本論文では、ラット大脳白質病変モデルを作製し、組織病理学的にラクナ梗塞に近似する病態を示すこと、神経学的に評価し一時的な運動機能低下を呈することを明らかにした。続いて、このモデルに拘束ストレスを加えると、うつ様症状を部分的に反映すると考えられる行動変化を引き起こすこと、またSSRIに対する反応性から、内因性うつ病とは違った中高年うつ病の一側面を呈するモデルと位置付けられることを明らかにした。大脳白質病変の病態解明、治療法確立、また大脳白質病変が関係するうつ病などの高次脳機能に関連する病態の研究に役立つ可能性があり、高齢化社会を迎える日本の医療に貢献することが期待され、学位の授与に値するものと考えられる。