

論文内容要旨

The role of glucocorticoid receptors in the induction and prevention of hippocampal abnormalities in an animal model of posttraumatic stress disorder

(PTSD モデルラットにおける海馬異常の惹起と予防に関するグルココルチコイド受容体の役割の検討)

Psychopharmacology, 237(7):2125-2137, 2020.

主指導教員：岡本 泰昌教授
(医系科学研究科 精神神経医科学)

副指導教員：橋本 浩一教授
(医系科学研究科 神経生理学)

副指導教員：酒井 規雄教授
(医系科学研究科 神経薬理学)

荒木 基亮

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

【背景】外傷後ストレス障害 (posttraumatic stress disorder: PTSD) は重篤なストレス事象に遭遇したした後、一定期間を経て病態が形成されることが知られているが、その機序は十分に解明されておらず、詳細な病態の理解に基づいた新たな予防法・治療法の開発が望まれている。PTSD の病態に関与する脳部位に関して未だ結論は得られていないが、これまでの動物モデルを用いた研究では内側前頭前野や海馬の神経可塑性の障害の関与が指摘されている。特に、海馬は PTSD 患者の MRI 研究においても萎縮が報告されている。一方、ストレス負荷による海馬萎縮の機序の一つとして、副腎皮質ホルモンの過剰分泌に引き続いて起こるグルココルチコイド受容体(GR) 活性化を介した神経細胞のアポトーシス制御機構の変化 (抑制因子・Bcl-2/促進因子・Bax の相対的低下) が提唱され、PTSD モデル動物においても海馬神経細胞のアポトーシス増加が報告されている。しかしながら、重篤なストレス曝露後に GR がいかにアポトーシス関連遺伝子の発現調節に影響するかは明らかになっていない。そこで、本研究では PTSD モデルである Single Prolonged Stress (SPS) ラットを用いて、ストレス負荷後急性期における GR の核内移行と GR を介したアポトーシス関連遺伝子の発現変動を検討した。さらに、ストレス負荷後に GR 阻害薬を投与し、SPS ラットにおいて海馬のアポトーシス増加や行動異常に及ぼす影響を検討した。

【方法】全ての実験に雄性 Sprague-Dawley ラットを用いた。SPS として、拘束ストレス 2 時間・強制水泳 20 分・エーテル深麻酔を連続曝露した。SPS 負荷後急性期の海馬 GR の核内移行の解析には核タンパク抽出後に Western blot 法を用いた。アポトーシス関連遺伝子として、ストレスでの変動が多数報告されている Bcl-2、Bax 遺伝子を評価した。GR は転写因子として機能するため、両遺伝子のプロモーター領域への GR 結合をクロマチン免疫沈降法と real time PCR 法を用いて、遺伝子発現変化を real time RT-PCR 法を用いて解析した。次に、SPS 直後に GR 阻害薬である RU486 を皮下投与し、SPS 負荷後急性期の核内 GR、Bcl-2・Bax 遺伝子発現変化に及ぼす影響を解析した。続いて、SPS ラットで生じる海馬アポトーシスへの RU486 が及ぼす影響を、SPS 負荷 1 週後に TUNEL 法を用いて解析した。最後に、PTSD の主要な症候と提唱されており SPS ラットが呈する恐怖記憶の消去の障害に RU486 が及ぼす影響を、文脈的恐怖条件付け試験を用いて解析した。

【結果】GR の核内移行は SPS 直後に増加し、2 時間後にピークとなった。その際、SPS ラットの Bcl-2 遺伝子のプロモーター領域への GR 結合は亢進し、Bcl-2 mRNA の発現は低下した。これに対して Bax 遺伝子のプロモーター領域への GR 結合および mRNA 発現とも有意な変化を認めなかった。RU486 投与により、SPS ラットの核内 GR 移行の増加と Bcl-2 mRNA 発現低下は阻害された。さらに、RU486 投与により、SPS ラットの SPS1 週間後の海馬のアポトーシスの増加と恐怖記憶の消去の障害は阻害された。

【考察】本研究の結果から、SPS ラットで生じる海馬アポトーシスの増加には、SPS 直後の GR の核内移行および Bcl-2 遺伝子上のグルココルチコイド応答配列 (glucocorticoid response element : GRE) への結合増加を介した Bcl-2 mRNA 発現低下が関与することが示唆された。核内 GR による遺伝子発現調節には亢進と抑制の双方向への機序が存在し、抑制には negative

GRE と呼ばれる配列が関与するとされる。Bcl-2 遺伝子はこの negative GRE を有し、グルココルチコイドの投与でその発現が抑制されることが報告されており、本研究でも GR 阻害薬投与で SPS ラットにおける海馬のアポトーシス増加が抑制されたことから、この経路を介した Bcl-2 の発現低下が、アポトーシス制御機構の恒常性の変化につながったと考えられた。海馬は扁桃体や内側前頭前野皮質などの脳部位と共に恐怖記憶の消去を担う神経回路を形成しており、GR 阻害薬による海馬のアポトーシス抑制が SPS における恐怖記憶の消去障害の改善に関連したと考えられた。

PTSD と副腎皮質ホルモンの関連は広く認識されているが、本研究では GR 系の亢進から海馬のアポトーシスに至る PTSD の病態形成過程をはじめて示すとともに、GR 阻害薬投与によって PTSD の発症を予防できる有望な可能性が示された。