

ストレスによる学習・記憶障害とその分子基盤（1）

平松正行、笈裕介、天野杏南、高橋ゆかり、三輪将也
名城大学大学院総合学術研究科薬学部薬品作用学研究室

【はじめに】種々の心労や悲哀、抑うつ状態が、感染症やホルモンバランスに大きな影響を与えることが臨床的に知られている。それとともに、強いストレスにより情動性などに関与する脳の高次機能に変化することも示唆されている。一方、実験動物に強いストレスを負荷すると、情動性および学習・記憶など脳の高次機能が障害される。ストレス負荷により、学習・記憶に関連の深い海馬や前頭皮質に神経化学的変化が生じていると考えられているが、その機構はまだ十分に解明されていない。また、種々のストレス負荷による脳機能障害の発現には、免疫系および内分泌系を介した全身的なストレス応答性が密接に関わっていることが示唆されるが、詳細については不明である。ストレス応答性の生理学的意義を理解し、ストレス対処法の確立を行うために、実験動物を用いてストレスによる脳機能障害の分子基盤と免疫および内分泌系との相互補完を神経科学的研究によって明らかにすることをこのプロジェクトの目的とした。本プロジェクト初年度は、心的外傷後ストレス障害(Posttraumatic Stress Disorder、PTSD)やストレス性胃潰瘍の研究用モデルマウス作成方法である、拘束ケージにマウスを閉じ込めマウスの鎖骨下まで水中に長時間拘束する「拘束水浸ストレス」(water-immersion restraint stress)を負荷したマウスの学習・記憶機能に対する影響について検討した。

【方法】実験には、7~9週齢の ddY 系雄性マウス(体重 34~46 g)を用いた。また、使用薬物として、コリンエステラーゼ阻害薬である 9-amino-1,2,3,4-tetrahydroacridine hydrochloride (タクリン、tacrine; 2.5、5.0、15.0 および 25.0 $\mu\text{mol}/\text{kg}$, s. c.)、抗うつ薬である desipramine hydrochloride (デシプラミン; 18.8、56.3 および 112.6 $\mu\text{mol}/\text{kg}$, i. p.)、ベンゾジアゼピン系抗不安薬である diazepam (ジアゼパム、3.5 $\mu\text{mol}/\text{kg}$, s. c.) を用いた。また、抗酸化作用をもつ catechin hydrate (カテキン; 0.324 mmol/kg, s. c.) を種々な投与スケジュールで連続投与した。学習・記憶機能の評価は、拘束水浸ストレス負荷をかけた後、Y字型迷路を用いた自発的交替行動試験およびステップダウン型受動回避学習試験により行った。

【結果および考察】拘束水浸ストレスを負荷し、5 または 7 日後において、自発的交替行動率が有意に減少した。拘束水浸ストレス負荷後 5 日目のマウスに、アセチルコリン分解酵素であるコリンエステラーゼの阻害剤、タクリン (2.5、5.0、15.0 および 25.0 $\mu\text{mol}/\text{kg}$) を自発的交替行動試験の 30 分前に皮下投与すると、有意に自発的交替行動障害が改善された。同様に、拘束水浸ストレス負荷後 5 日目のマウスに、デシプラミン (18.8、56.3 および 112.6 $\mu\text{mol}/\text{kg}$) を自発

的交替行動試験の 30 分前に腹腔内投与すると、有意に自発的交替行動障害が改善された。拘束水浸ストレス負荷後 7 日目のマウスに、タクリン (2.5、5.0、15.0 および 25.0 $\mu\text{mol}/\text{kg}$) を受動的回避学習試験の 30 分前に皮下投与すると、ストレス負荷により短縮したステップダウン潜在時間が有意に延長した。一方、デシプラミン (18.8、56.3 および 112.6 $\mu\text{mol}/\text{kg}$) を腹腔内投与しても有意な改善作用は見られなかった。これらの結果から、拘束水浸ストレスを負荷すると、ストレス負荷後 5-7 日目に学習・記憶機能の障害がみられ、その原因の一つとして、アセチルコリン作動性神経系の機能低下が考えられた。また、デシプラミンの単回投与では十分な効果が得られなかったことから、障害が発現した後ではデシプラミンは効果がないこと、デシプラミンにより神経終末部でノルアドレナリンの再取り込みを阻害し、この神経機能を一時的に活性化させても、学習・記憶機能障害は改善されない可能性が示唆された。一方、抗不安薬であるジアゼパム (3.5 $\mu\text{mol}/\text{kg}$) を拘束水浸ストレス負荷の 1 時間前と後に投与したところ、負荷後 5 日目における自発的交替行動障害および 7-8 日後における受動的回避学習試験で、学習・記憶障害が部分的にはあるが有意に改善された。よって、拘束水浸ストレス負荷時には、マウスはストレスとともに強い不安を感じていると考えられ、ストレス時に生じる不安を和らげることによって、後日に遅発性に惹起されてくる学習・記憶障害が抑制されることが明らかとなった。

ストレス負荷によって、視床下部-下垂体前葉-副腎皮質 (HPA) 系が活性化して、糖質コルチコイドが過剰に分泌され、海馬が障害される可能性があること、また、脳内でグルタミン酸などが過剰に遊離されることなどにより、スーパーオキシドアニオンや脂質の過酸化といった活性酸素種が増加し、神経細胞の障害、さらに学習・記憶機能が障害を受けることが示唆されている。カテキンは、茶に含まれるポリフェノールの 1 つで、抗酸化作用により酸化ストレスによる神経障害を保護する作用があることが報告されている。そこで、拘束水浸ストレス時において発生していると考えられる活性酸素種からの障害を緩和する目的で、カテキンを種々の投与スケジュールで投与し、拘束水浸ストレスによる学習・記憶機能障害が改善されるかどうか検討した。カテキン (0.324 mmol/kg) を、ストレス負荷前より連日皮下投与すると、自発的交替行動試験および受動的回避学習試験において、拘束水浸ストレス負荷による学習・記憶障害が有意に改善された。さらに、拘束水浸ストレス負荷の前後に短期的に投与した場合においても、記憶障害が有意に改善された。しかし、短期的な投与スケジュールでは、受動的回避学習において効果が認められなかった。今回、カテキンをストレス負荷前後に投与することにより、学習・記憶障害が改善されたことから、神経障害に対し主にストレス後に生じる酸化ストレスによる障害に対し、予防的に作用している可能性が考えられた。従って、今後、これらの分子メカニズムの解明を進めるとともに、ストレスの種類を変えた時の行動変化、脳内変化について検討していく予定である。