

研究論文要旨

申請者 湯舟 晋也

題 目

発達期の脳における ERK 経路阻害の影響に関する研究

1 背景

麻酔薬は神経系を抑制するもっとも強力な薬物の一つであるが、中枢神経に与える長期的な影響に関しては不明な点が多い。発達期とは、中枢神経が外界からの刺激などに高い感受性を示す一定の時期であるが、この時期の学習や経験は神経回路の形成に大きく影響することが知られている。近年、齧歯類を発達期に麻酔薬暴露させると中枢神経に広範なアポトーシスを来し、成長後の記憶学習障害などを来すことが報告されており、発達期の入力刺激の遮断あるいは不適切な刺激が神経回路の形成に悪影響を来す可能性が示唆されている。しかし中枢神経における悪影響についてそのメカニズムはほとんど明らかにされていない。

近年、ERK の活性化抑制を阻害するリチウムで神経細胞死が軽減されることから、発達期の全身麻酔薬暴露による中枢神経毒性に ERK 経路が関与している可能性が示唆されてきた。

2 目的

本研究は、発達期において ERK 経路が神経回路の形成に重要な役割を担っていると仮定し、発達期マウスでの麻酔薬中枢神経毒性における ERK の役割を検証することを目的とした。

3 方法

C57/BL6 マウスを用い、発達期のピークとされる生後 6 日目(P6)のマウスおよび生後 14 日目(P14)のマウスに ERK1/2 の選択的活性化阻害剤である SL327 を投与した。さらに中枢神経系のアポトーシスをウェスタンブロット法、およ

び免疫染色法を用いて評価した。さらにこのマウスを4週齢まで成長させ、細胞外記録法により海馬における長期増強、ホールセルパッチクランプ法により NMDA/AMPA 比を測定した。また ERK の阻害が成長後の行動に与える影響を検討するため、さらに10週齢まで成長させたこのマウスにおいて行動実験により記憶・学習、社会性行動について評価した。

4 結果

P6 マウスへの SL327 投与により、ウェスタンブロット法および Caspase-3 による免疫染色法から、中枢神経に広範なアポトーシスを来していることが判明した。動脈血液ガス分析において対照群と比較して差はないことから、薬剤投与による呼吸抑制等の影響は否定された。P14 マウスへの SL327 投与では中枢神経でのアポトーシスは見られなかった。

電気生理学的な検討から、P6 マウスへの SL327 投与は海馬での長期増強を抑制し、NMDA/AMPA 比を変化させたが、この現象は P14 マウスへの SL327 ではみられなかった。

P6 マウスに SL327 を投与すると、Y 迷路テスト、高架式十字迷路において対照群と比較して差を認め、短期的な空間認識能力が変化している可能性を示唆する。また社交性テストにおいて対照群と差を認めることから、自閉症様行動を引き起こす可能性も認めた。自閉症様行動を評価するため、代表的な症状のひとつと言われる反復常同行動を調べるために、グルーミング時間を測定したところ、対照群と比較して有意に長かった。またこれらの現象は P14 マウスへの SL327 投与では見られなかった。

ノックアウトマウスを用いた検討からは、アポトーシスの出現には ERK1/2 の両方のアイソフォームの活性化抑制が必要であることが判明した。

5 考察

マウスにおいて ERK 阻害が中枢神経系のアポトーシスに影響を与えるのは P14 よりも前までである。また電気生理学的な実験結果からは、LTP に差が見

られるが NMDA/AMPA 比が変化していることから、NMDA 受容体あるいは AMPA 受容体のシナプス後膜での受容体サブユニットの機能変化が関与している可能性がある。また ERK 阻害により成長後に空間作業記憶・社会行動性に異常を来すが、発達期の ERK 阻害が自閉症様行動を引き起こす可能性が示唆された。

6 結論

マウスにおいて、臨界期の ERK 経路の活性化抑制が中枢神経毒性を生じ、成長後に学習、行動異常を来す。