

氏名（本籍）	小松 紘子		
学位の種類	博士（医学）		
学位記番号	博甲第	7440	号
学位授与年月	平成 27 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	グリシントランスポーター 1 阻害薬の抗不安作用機序に関する薬理学的研究		
主査	筑波大学教授	医学博士	玉岡 晃
副査	筑波大学教授	博士（医学）	梶 正幸
副査	筑波大学教授	理学博士	久野 節二
副査	筑波大学准教授	博士（医学）	森田 展彰

## 論文の内容の要旨

### （目的）

グリシンは、哺乳類の中枢神経系において神経伝達物質として機能することが知られている。グリシンによる神経伝達は、2 種類の受容体：strychnine 感受性グリシン受容体 (GlyA) および strychnine 非感受性グリシン受容体 (GlyB) を介して行なわれる。活動電位依存的にシナプス間隙に放出されたグリシンは、グリシン作動性神経シナプスにおいては、シナプス後膜に発現する GlyA に結合して神経の興奮性を抑制し、グルタミン酸作動性神経シナプスにおいては、シナプス後膜に発現する NMDA 受容体のグリシン結合部位 (GlyB) に結合して神経の興奮性を促進する。このようにグリシンは、神経の興奮性に対して抑制と興奮という、相反する作用を持つ。シナプス間隙のグリシン濃度は、グリシントランスポーター 1 (GlyT1) およびグリシントランスポーター 2 (GlyT2) により制御されている。GlyT1 は主にアストロサイトおよびグルタミン酸神経に局在しており、NMDA 受容体を含む興奮性シナプス間隙においてグリシン濃度を調整することが示唆されてきた。ゆえに、GlyT1 阻害薬は NMDA 受容体機能を促進すると考えられている。GlyT1 阻害薬は、ラットの文脈的恐怖条件付け試験において、すくみ反応を抑制するとの報告や、ラット新生仔の母子分離誘発啼鳴反応を抑制するとの報告から、抗不安作用を有する可能性が示唆されている。しかし、どちらのグリシン受容体がこの抗不安作用に寄与しているかについては、未だ十分な検証がなされていない。そこで本研究では、GlyT1 阻害薬による抗不安作用に対して、GlyA および GlyB のどちらが主に寄与するかを明らかにすることを目的とし、薬理学的手法で検証を行なった。

### （対象と方法）

母子分離誘発啼鳴反応は、げっ歯類における不安の指標として確立されており、既存の抗不安薬の作

用が最も高感度に検出できる評価系である。本研究において、この試験を用いるにあたり、ラット新生仔の日齢、および母子分離からの時間による啼鳴反応の変化を調べ、最も啼鳴反応の回数が多い条件を検討した。次に GlyT1 阻害薬の作用機序解明を目的として、GlyT1 阻害薬の啼鳴反応抑制作用に対する GlyA アンタゴニスト strychnine あるいは GlyB アンタゴニスト L-687,414 の拮抗作用について検討した。一方、母子分離誘発啼鳴反応試験はラット新生仔を用いるが、発達期の新生仔と成獣とは標的タンパク質の発現量、分布あるいは機能が異なる可能性があり、成獣の不安を反映しているのか疑問が残る。そこで成熟した動物における GlyT1 阻害薬の抗不安様作用を検証する目的で、マウス成獣を用いた明暗箱試験を行なった。さらに、GlyT1 阻害薬が海馬細胞外グリシン濃度に及ぼす効果を、ラットを用いた microdialysis 試験により検討した。

### (結果)

ラット新生仔を用いた母子分離誘発啼鳴反応の基礎的な条件検討により、最も啼鳴反応の回数が多い条件として、10 日齢、および母子分離直後 3 分間の実験条件であることが明らかとなった。GlyT1 阻害薬による啼鳴反応抑制作用は、strychnine によって拮抗された一方、L-687,414 によって拮抗されなかった。従って、GlyT1 阻害薬の母子分離誘発啼鳴反応抑制作用は、GlyB ではなく GlyA を介することが明らかとなった。また、GlyT1 阻害薬は、明箱への移動潜時を短縮し、明箱滞在時間を増加させたことから、抗不安様作用を有することが示唆された。GlyT1 阻害薬が成獣においても抗不安様作用を示したことは、新生仔における GlyT1 阻害薬の母子分離誘発啼鳴反応抑制作用が、抗不安様作用を反映しているという考察を支持するものである。また、GlyT1 阻害薬はラット海馬細胞外グリシン濃度を用量依存的に増加させたことから、GlyT1 阻害薬の抗不安様作用は、脳内グリシン濃度の増加によって引き起こされることが示唆された。

### (考察)

本研究による検討より、GlyT1 阻害薬は脳内グリシンを増加させることで抗不安様作用を示し、その作用機序は GlyB ではなく GlyA を介していることが明らかにされた。母子分離誘発啼鳴反応試験ではラット新生仔を用いているため、成熟動物との対比を論ずるにはラット成獣を用いて検証することが望ましく、今後、検証が必要な点である。さらに、本研究において得られた GlyT1 阻害薬の GlyA を介した抗不安様作用が、脳内のどの部位の GlyA を介しているかは未検討である。GlyT1 は、情動に関連する脳部位である扁桃体等に発現が認められるため、扁桃体等における GlyA 発現量と不安行動への関与は検討課題として興味を持たれる。現在、臨床開発が進められている GlyT1 阻害薬は抗不安作用を示す可能性があり、その作用機序は、従来考えられてきた GlyB による神経伝達促進ではなく GlyA を介する神経伝達抑制であることが本研究において示された。

## 審査の結果の要旨

### (批評)

本研究は GlyT1 阻害薬が脳内グリシンを増加させ、GlyA を介して抗不安様作用を示すことを明らかにした点で高く評価できる。本研究において得られた GlyT1 阻害薬の GlyA を介した抗不安様作用が、脳内のどの部位の GlyA を介しているかが未検討であるなど、今後の課題を残しているが、GlyT1 阻害薬の抗不安作用機序の一端を解明した意義は大きい。

平成 26 年 12 月 22 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。