

題目：恐怖条件付けストレス反応に対する抑肝散およびフルボキサミンの併用効果とそのメカニズム

医療・生命薬学専攻

学籍番号：14R3001

氏名：大野凜太郎

研究指導教員：武田 弘志 副研究指導教員：辻 稔

キーワード：抑肝散 フルボキサミン 恐怖条件付け 5-HT_{2A}受容体 シグマ-1受容体

【背景と目的】

脳内セロトニン（5-HT）神経系は、恐怖記憶の調節や恐怖に関連した精神疾患のメカニズムに深く関与していることが示唆されており、これら疾患の治療には選択的 5-HT 再取り込み阻害薬（SSRI）が使用される。一方、動物は恐怖を経験するとその場所や状況などを長期間記憶し、再び同様の環境に置かれると様々なストレス反応を呈する。このような恐怖記憶に基づいたストレス反応は「恐怖条件付けストレス反応」と呼ばれ、本来は生得的な防御反応として重要なものであるが、過剰になるとうつ病や不安障害などのストレス性精神疾患の発症につながると考えられている。また、げっ歯類が示す代表的な恐怖条件付けストレス反応であるすくみ行動（身を固めて動かなくなる行動）は不安の評価に使用され、SSRI の投与により抑制されることが報告されている。

近年、西洋薬の効果増強や副作用軽減を目的として、漢方薬を併用する統合医療が注目されている。精神科領域でも複数の漢方薬の有効性が確認されており、そのうちの 1 つとして抑肝散が挙げられる。元来、抑肝散は、神経症、不眠症、小児夜なき、小児疳症に対する適応を有する漢方薬であるが、その他認知症の周辺症状や各種ストレス性精神症状の寛解にも有効であることが明らかにされている。そこで本研究では、不安障害に対する統合医療の有用性を見出すことを目的として、SSRI の 1 つであるフルボキサミンと抑肝散の併用が恐怖条件付けストレス反応に及ぼす影響、ならびにそのメカニズムについて検討した。

【方法】

1. 使用動物と倫理上の配慮

全ての実験には ICR 系雄性マウス（6 週齢）を用いた。実験の実施に当たっては、実験動物に対する動物愛護上の問題に配慮し、本学の動物実験委員会承認のもと、「国際医療福祉大学動物実験規程」ならびに「動物実験に関する日本薬理学会指針」を遵守して、適切な実験動物の飼育と動物実験を行った。

2. 恐怖条件付けストレス反応に対するフルボキサミンと抑肝散の併用効果

マウスを実験箱に入れ、電撃刺激（1 mA、1 秒）を 1～10 秒間隔で 36 回負荷することにより恐怖条件付けを行った。その 24 時間（フルボキサミン単独投与時）あるいは 1 週間後（フルボキサミン - 抑肝散併用投与時）に、マウスを再び同じ実験箱に入れ、すくみ行動の発現時間を、電撃刺激を負荷せず 6 分間測定した。抑肝散は条件付けを行った翌日からテストの前日まで、1 日 1 回 6 日間経口投与した。フルボキサミンはテストを行う 30 分前に腹腔内投与した。尚、抑肝散およびフルボキサミンの投与容量は、ともに 10 mL/kg とした。

3. 脳内 5-HT_{1A} および 5-HT_{2A} 受容体発現量に対するフルボキサミンと抑肝散の併用効果

上記 2 に記述した恐怖条件付けストレス試験が終了した直後に全脳を摘出し、前頭前皮質、海馬、扁桃体に分画した。各脳組織における 5-HT_{1A} および 5-HT_{2A} 受容体の発現量を western blot 法により定量した。

4. 恐怖条件付けストレス反応に対する選択的 5-HT_{2A} 受容体拮抗薬ケタンセリンの効果

ペントバルビタール（80 mg/kg）の腹腔内投与によりマウスを麻酔し、内側前頭前皮質（ブレグマから前側 2.0 mm、左側 0.2 mm、深さ 2.0 mm）にガイドカニューレを挿入する

手術を行った。術後 5~7 日間経過後に上記 2 に記述した条件で恐怖条件付けを行い、24 時間後にテストを行った。ケタンセリンは、テストを行う 40 分前にガイドカニューレに挿入したインターカニューレを介して微量注入した。尚、ケタンセリンの投与容量は 0.1 $\mu\text{L}/\text{mouse}$ とし、投与速度は 0.1 $\mu\text{L}/\text{min}$ とした。

5. 恐怖条件付けストレス反応に対する選択的シグマ-1 受容体作動薬 SA4503 と抑肝散の併用効果

上記 2 に記述した条件で恐怖条件付けを行い、その 24 時間後 (SA4503 単独投与時) あるいは 1 週間後 (SA4503 - 抑肝散併用投与時) にテストを行った。抑肝散は条件付けを行った翌日からテストの前日まで 1 日 1 回 6 日間経口投与し、SA4503 はテストを行う 30 分前に腹腔内投与した。尚、抑肝散および SA4503 の投与容量は、ともに 10 mL/kg とした。

【結果および考察】

1. 恐怖条件付けストレス反応に対するフルボキサミンと抑肝散の併用効果

恐怖条件付けにより誘発されるマウスのすくみ行動は、テスト前にフルボキサミン (5-20 mg/kg) を単回投与することにより用量依存的に抑制され、特に 10 および 20 mg/kg では有意な効果が認められた。また、恐怖条件付けの翌日よりテストの前日まで、抑肝散 (0.3 および 1 g/kg) を 6 日間慢性投与したマウスでは、単独では有意な効果を示さなかった用量のフルボキサミン (5 mg/kg) も有意なすくみ行動抑制効果を示した。これらの結果より、恐怖条件付けストレス反応に対するフルボキサミンの抑制効果は、抑肝散を併用することにより相乗的に増強することが明らかとなった。

2. 脳内 5-HT_{1A} および 5-HT_{2A} 受容体発現量に対するフルボキサミンと抑肝散の併用効果

抑肝散の慢性投与によりフルボキサミンのすくみ行動抑制効果が増強したマウスの脳内では、前頭前皮質特異的に 5-HT_{2A} 受容体の発現量が有意に減少していた。一方、5-HT_{1A} 受容体の発現量には、特筆すべき変化は認められなかった。これらの結果より、恐怖条件付けストレス反応に対するフルボキサミンの抑制効果が抑肝散の慢性投与により増強するメカニズムに、前頭前皮質における 5-HT_{2A} 受容体のダウンレギュレーションが関与することが示唆された。

3. 恐怖条件付けストレス反応に対するケタンセリンの効果

恐怖条件付けにより誘発されるマウスのすくみ行動は、テスト前にケタンセリン (5 nmol/mouse) を内側前頭前皮質に局所投与することにより有意に抑制された。したがって、恐怖条件付けストレス反応の発現メカニズムにおいて、内側前頭前皮質の 5-HT_{2A} 受容体が重要な役割を担っていることが確認された。

4. 恐怖条件付けストレス反応に対する選択的シグマ-1 受容体作動薬 SA4503 と抑肝散の併用効果

恐怖条件付けにより誘発されるマウスのすくみ行動は、テスト前に SA4503 (1 mg/kg) を単回投与することにより有意に増強した。一方、SA4503 (1 mg/kg) により誘発されるすくみ行動増強効果は、抑肝散 (1 g/kg) を 6 日間慢性投与したマウスでは抑制された。したがって、シグマ-1 受容体が恐怖条件付けストレス反応の発現を促進的に制御していること、また、抑肝散の慢性投与がシグマ-1 受容体を介した情報伝達の低下を引き起こすことが示唆された。フルボキサミンがシグマ-1 受容体に対する作動活性を有することを考慮すると、このシグマ-1 受容体の機能低下が、恐怖条件付けストレス反応に対する抑肝散とフルボキサミンとの相互作用のメカニズムの一部関与している可能性が示唆された。

【結語】

以上より、抑肝散の反復投与は前頭前皮質における 5-HT_{2A} 受容体を介した情報伝達の低下を引き起こすことにより、フルボキサミンの抗不安様効果を増強することが示唆された。また、他のメカニズムとして、シグマ-1 受容体のダウンレギュレーションが一部関与している可能性も併せて示唆された。したがって、既存の薬物治療では十分な効果が得られない不安障害の患者に対して、フルボキサミンと抑肝散の併用投与が有用である可能性が考えられる。