

|             |                                       |
|-------------|---------------------------------------|
| 氏 名         | 吉 田 樹 生                               |
| 国 籍 ・ 本 籍   | 愛知県                                   |
| 学 位 の 種 別   | 博士（薬学）                                |
| 学 位 の 番 号   | 甲387                                  |
| 学位授与の日付     | 令和7年3月18日                             |
| 学位授与の要件     | 名城大学学位規程第 3 号 3 項該当                   |
| 学 位 論 文 題 目 | 幼若期における心理社会的ストレス負荷によるグルタミン酸神経機能に関する研究 |
| 論文審査委員      | 主 査 野 田 幸 裕                           |
|             | 副 査 平 松 正 行                           |
|             | 副 査 山 本 英 督                           |

## 論 文 内 容 の 要 旨

うつ病や心的外傷後ストレス障害などのストレス関連精神疾患の発症リスク因子として、幼少期（1~12 歳）におけるいじめや虐待などの心理社会的ストレスの存在が示唆されている[1, 2]。しかし、幼少期におけるいじめや虐待などの心理社会的ストレスへの曝露により惹き起こされる精神疾患に対する予防法や治療法は確立していない。幼少期におけるいじめや虐待などの心理社会的ストレスへの曝露により惹き起こされる精神疾患に対する予防法や治療法を開発するためには、ヒトの臨床検体を用いた発症脆弱性に関連する遺伝子や分子の探索に加え、心理社会的ストレスを負荷したモデル動物を用いて発症機序やその病態の解明を行い、これらの研究成果をヒトへ外挿する必要がある。

心理社会的ストレスへの曝露によるストレス関連精神疾患に対する妥当性の高いモデルとして、成体期マウスに社会的敗北ストレスを負荷したモデルが汎用されている。しかし、幼少期における心理社会的ストレスへの曝露を想定としたモデル動物を作製し、ストレス関連精神疾患の病態解明、あるいは新規治療標的の探索を行った研究は少ない。ヒトにおける幼少期に相当する幼若期（3 週齢）のマウスは、成体期（10 週齢）では社会性行動障害を発現しない単回の社会的敗北ストレスでも社会性行動障害を発現する[3]。幼若期マウスに 10 日間の社会的敗北ストレスを負荷すると、成体期まで持続する社会性行動障害（引きこもり）を発現し[3]、この社会性行動障害は選択的セロトニン取り込み阻害薬（SSRI）であるセルトラリンや抗精神病薬であるアリピプラゾールの連続投与に対して抵抗性を示す[4]。これらの知見から、幼若期社会的敗北ストレスモデルは、幼少期における心理社会的ストレス曝露により幼少

期から青年期にかけて惹き起こされるストレス関連精神疾患の症状の一部を再現しており、ストレスの負荷回数によって幼若期から若年期に惹き起こされる脳機能変化の調査や新規治療標的の探索に有用であると考えられる。

近年、グルタミン酸神経系がうつ病などのストレス関連精神疾患の病態や即効性抗うつ薬の作用機序に関与していることが見出されている[5]。グルタミン酸の受容体の一つである N-methyl-D-aspartate (NMDA) 受容体は、グリシン結合部位を持つ GluN1 および GluN3 サブユニットとグルタミン酸結合部位を持つ GluN2 サブユニットからなるヘテロ 4 量体を形成する[6]。GluN2 サブユニットの遺伝子変異マウスや GluN2 サブユニットの拮抗薬を用いた研究が多数行われており、これらの報告から GluN2 サブユニットがストレス関連精神疾患の病態に関与することが示唆される[7, 8, 9, 10]。基礎および臨床研究において非競合的 NMDA 受容体拮抗薬であるケタミンの急性投与は即効性の抗うつ作用を示す[11, 12]が、ケタミンには解離や依存などの副作用を有し、その使用は制限されている。他の非競合的 NMDA 受容体拮抗薬であるメマンチンは、自閉スペクトラム症や注意欠如・多動症などの精神疾患を有する若年患者に対して有効であること[13, 14, 15]が報告されており、ケタミンの代替薬として注目されている。しかし、単回の社会的敗北ストレスを負荷した幼若期マウスに認められる社会性行動障害の形成や発現に対するグルタミン酸神経系の関与やメマンチンの社会性行動障害に対する有効性およびその作用機序については詳細に解明されていない。

第 1 章では、幼若期マウスに単回の社会的敗北ストレスを負荷した際に認められる社会性行動障害の形成や発現にグルタミン酸神経系が関与しているかどうか、社会性行動障害に対するメマンチンの有効性およびその作用機序を検討した。その結果、社会的敗北ストレスを単回負荷した幼若期マウスにおける社会性行動障害の発現に前頭前皮質における GluN2A のリン酸化亢進を介した NMDA 受容体の活性化とそれに伴う ERK1/2 の活性化が関与していた。GluN2A の遺伝子変異および薬理的遮断は、NMDA 受容体依存性の ERK1/2 活性化の抑制を介して社会性行動障害を緩解することを見出した。また、メマンチンの急性投与は、GluN2A の抑制による NMDA 受容体依存性の ERK1/2 活性化抑制と NMDA 受容体非依存的な基礎 ERK1/2 活性の亢進により社会性行動障害を緩解させることを示唆した。したがって、幼少期においていじめや虐待などの心理社会的ストレスに曝露され、幼少期に発症したストレス関連精神疾患の治療にメマンチンなど GluN2A を遮断する薬物が有効であることが示唆された。

ケタミンの投与は即効性の抗うつ作用を示す[11]が、その使用は制限を伴う。したがって、ケタミンの詳細な作用機序の解明は、ケタミンによる解離や依存などの副作用を有さない新規抗うつ薬の開発につながると考えられる。ケタミンの標的となる NMDA 受容体は、構成するサブユニットの違いによって受容体特性が変化する[16]。特に GluN2A/GluN2B 含有 NMDA 受容体に比べ GluN2C/GluN2D 含有 NMDA 受容体では、 $Mg^{2+}$ によるチャネル遮断作用が弱いことが知られている[17]。ケタミンの非競合的 NMDA 受容体拮抗作用についても同様に、GluN2A/GluN2B 含有 NMDA 受容体に比べ GluN2C/GluN2D 含有 NMDA 受容体に強いことが示されている[18]。ケタミンの作用と GluN2C/GluN2D との関連性については、ケタミンの運動亢進などの精神病様行動誘発作用に GluN2C が関与していること[19]や、GluN2D KO マウスに R-ケタミンや(2R, 6R)-ヒドロキシノルケタミンを投与すると野生型マウスで認められた尾懸垂試験における無動時間の短縮が惹き起こされない[20, 21]など多数報告されている。しかし、幼若期に単回あるいは 10 日間の社会的敗北ストレスを負荷したマウスに認められる社会性行動障害の発現に

GluN2C や GluN2D が関与するか、およびケタミンの社会性行動障害の緩解作用に GluN2C/GluN2D が関与するかについては不明である。

第 2 章では、幼若期に単回あるいは 10 日間の社会的敗北ストレスを負荷したマウスに認められる社会性行動障害およびケタミンの社会性行動障害緩解作用に対する GluN2C/GluN2D の関与について検討を行った。その結果、連続ストレス負荷マウスでは前頭前皮質における GluN2C/GluN2D の発現増加が認められるが、そのような変化は単回ストレス負荷マウスでは認められなかった。連続ストレス負荷マウスに認められる社会性行動障害は、GluN2C/GluN2D 拮抗薬である (2S\*, 3R\*)-1-(Phenanthren-2-carbonyl)piperazine-2,3-dicarboxylic acid (PPDA) の投与により緩解することが見出された。連続ストレス負荷マウスに認められる社会性行動障害に対するケタミンの作用に GluN2C/GluN2D の遮断が部分的に関与することが示唆された。したがって、幼少期における心理社会的ストレスへの曝露により発症する青年期でのストレス関連精神疾患の病態やケタミンの即効性抗うつ作用の発現に GluN2C/GluN2D が関与することが示唆される。

以上のように、本研究は、幼少期におけるいじめや虐待などの心理社会的ストレスへの曝露がグルタミン酸神経系に与える影響の一端を解明した。本研究により得られた知見は、これらのストレス曝露により発症するストレス関連精神疾患の病態解明ならびに新規治療薬開発の一助となる可能性がある。

## 参考文献

- [1] Dunn, E.C., McLaughlin, K.A., Slopen, N., Rosand, J., Smoller, J.W., (2013). Developmental timing of child maltreatment and symptoms of depression and suicidal ideation in young adulthood: results from the National Longitudinal Study of Adolescent Health. *Depress Anxiety*. 30(10):955-964.
- [2] Schalinski, I., Teicher, M.H., Nischk, D., Hinderer, E., Müller, O., Rockstroh, B., (2016). Type and timing of adverse childhood experiences differentially affect severity of PTSD, dissociative and depressive symptoms in adult inpatients. *BMC Psychiatry*. 16:295.
- [3] Mouri, A., Ukai, M., Uchida, M., Hasegawa, S., Taniguchi, M., Ito, T., Hida, H., Yoshimi, A., Yamada, K., Kunimoto, S., Ozaki, N., Nabeshima, T., Noda, Y., (2018). Juvenile social defeat stress exposure persistently impairs social behaviors and neurogenesis. *Neuropharmacology*. 133:23-37.
- [4] Hasegawa, S., Miyake, Y., Yoshimi, A., Mouri, A., Hida, H., Yamada, K., Ozaki, N., Nabeshima, T., Noda, Y., (2018). Dysfunction of serotonergic and dopaminergic neuronal systems in the antidepressant-resistant impairment of social behaviors induced by social defeat stress exposure as juveniles. *Int J Neuropsychopharmacol*. 21(9):837-846.
- [5] Sanacora, G., Zarate, C.A., Krystal, J.H., Manji, H.K., (2008). Targeting the glutamatergic system to develop novel, improved therapeutics for mood disorders. *Nat Rev Drug Discov*. 7(5):426-437.
- [6] Zoicas, I., Kornhuber, J., (2019). The role of the N-Methyl-D-Aspartate receptors in social behavior in rodents. *Int J Mol Sci*. 20(22):5599
- [7] Gordillo-Salas, M., Pilar-Cuellar, F., Auberson, Y.P., Adell, A., Signaling pathways responsible for the rapid antidepressant-like effects of a GluN2A-preferring NMDA receptor antagonist. *Transl Psychiatry*. 8(1):84.

- [8] Francija, E., Petrovic, Z., Brkic, Z., Mitic, M., Radulovic, J., Adzic, M., (2019). Disruption of the NMDA receptor GluN2A subunit abolishes inflammation-induced depression. *Behav Brain Res.* 359:550-559.
- [9] Li, S.X., Han, Y., Xu, L.Z., Yuan, K., Zhang, R.X., Sun, C.Y., Xu, D.F., Yuan, M., Deng, J.H., Meng, S.Q., Gao, X.J., Wen, Q., Liu, L.J., Zhu, W.L., Xue, Y.X., Zhao, M., Shi, J., Lu, L., (2018). Uncoupling DAPK1 from NMDA receptor GluN2B subunit exerts rapid antidepressant-like effects. *Mol Psychiatry.* 23(3):597-608.
- [10] Ogden, K.K., Khatri, A., Traynelis, S.F., Heldt, S.A., (2014). Potentiation of GluN2C/D NMDA receptor subtypes in the amygdala facilitates the retention of fear and extinction learning in mice. *Neuropsychopharmacology.* 39(3):625-637.
- [11] Zarate, C.A. Jr., Singh, J.B., Carlson, P.J., Brutsche, N.E., Ameli, R., Luckenbaugh, D.A., Charney, D.S., Manji, H.K., (2006). A randomized trial of an N-methyl-D-aspartate antagonist in treatment-resistant major depression. *Arch Gen Psychiatry.* 63(8):856-864.
- [12] Donahue, R.J., Muschamp, J.W., Russo, S.J., Nestler, E.J., Carlezon, W.A. Jr., (2014). Effects of striatal  $\Delta$ FosB overexpression and ketamine on social defeat stress-induced anhedonia in mice. *Biol Psychiatry.* 76(7):550-558.
- [13] Hosenbocus, S., Chahal, R., (2013). Memantine: a review of possible uses in child and adolescent psychiatry. *J Can Acad Child Adolesc Psychiatry.* 22(2):166-171.
- [14] Karahmadi, M., Tarrahi, M.J., Vatankhah Ardestani, S.S., Omranifard, V., Farzaneh, B., (2018). Efficacy of memantine as adjunct therapy for autism spectrum disorder in children aged <14 years. *Adv Biomed Res.* 7:131.
- [15] Mohammadi, M.R., Mohammadzadeh, S., Akhondzadeh, S., (2015). Memantine versus methylphenidate in children and adolescents with attention deficit hyperactivity disorder: a double-blind, randomized clinical trial. *Iran J Psychiatry.* 10(2):106-114.
- [16] Cull-Candy, S.G., Leszkiewicz, D.N., (2004). Role of distinct NMDA receptor subtypes at central synapses. *Sci STKE.* 2004(255):re16.
- [17] Kuner, T., Schoepfer, R., (1996). Multiple structural elements determine subunit specificity of  $Mg^{2+}$  block in NMDA receptor channels. *J Neurosci.* 16(11):3549-3558.
- [18] Kotermanski, S.E., Johnson, J.W., (2009).  $Mg^{2+}$  imparts NMDA receptor subtype selectivity to the Alzheimer's drug memantine. *J Neurosci.* 29(9):2774-2779.
- [19] Khlestova, E., Johnson, J.W., Krystal, J.H., Lisman, J., (2016). The role of GluN2C-containing NMDA receptors in ketamine's psychotogenic action and in schizophrenia models. *J Neurosci.* 36(44):11151-11157.
- [20] Ide, S., Ikekubo, Y., Mishina, M., Hashimoto, K., Ikeda, K., (2017). Role of NMDA receptor GluN2D subunit in the antidepressant effects of enantiomers of ketamine. *J Pharmacol Sci.* 135(3):138-140.
- [21] Yamagishi, A., Ikekubo, Y., Mishina, M., Ikeda, K., Ide, S., (2024). Loss of the sustained antidepressant-like effect of (2R,6R)-hydroxynorketamine in NMDA receptor GluN2D subunit knockout mice. *J Pharmacol Sci.* 154(3):203-208.