

AMCoR

Asahikawa Medical University Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

旭川医科大学研究フォーラム (2016.3) 16:19-20.

平成25・26年度「独創性のある生命科学研究」個別研究課題 8) 新規抗不安薬の恐怖情動に対する定量的評価系の確立

宮園 貞治

8) 新規抗不安薬の恐怖情動に対する定量的評価系の確立

研究代表者 宮園 貞治

【目的】

恐怖情動はヒトや動物が外敵などの危険から身を守るための本能であるが、その情動の異常は恐怖症や心的外傷後ストレス障害 (PTSD) などの不安障害の原因となる。不安障害の治療薬の開発には、実験動物に一定の恐怖情動を誘起し、その強度を定量的に評価する系が必要である。一昨年に我々は、オオカミの尿からマウスに対して強い恐怖情動を引き起す匂い物質ピラジン化合物 (2, 6-dimethylpyrazine, 2, 5-dimethyl-3-ethylpyrazine, 2, 3, 5-trimethylpyrazine) を見出した¹⁾。他の恐怖誘発物質と同様に²⁾、これら3種のピラジン化合物 (pyrazine-analog mixture; P-mix) も、マウスに生得的な恐怖情動を誘起して様々な行動および生理的な反応をもたらすと予想される。本研究では、不安障害の原因となり得る恐怖情動に対する抗不安薬の候補物質の効果を定量的に評価する系を確立することを目的とした。まず、P-mix によって誘起される恐怖情動を定量的に評価した。そして、この評価系を用いて、現在日本で非常に多く処方されている抗不安薬のひとつであるエチゾラムの効果を検証した。

【方法】

まず、P-mix により誘起される恐怖情動を定量的に評価するために、マウス (BALB/c、オス、3~6月齢) を P-mix 存在下に置き、行動 (忌避・不動・危険確認・毛繕い・立ち上がり) および生理的变化 (体表面温度・ストレスホルモン放出) について調べた。個々の行動解析は、マウスの行動を撮影した動画から各々

の指標を測定して行った。体表面温度の解析は、尻尾基部の表面温度をサーモグラフィカメラで撮影して行った。ストレスホルモンの解析は、血漿コルチコステロン濃度を ELISA で測定して行った。次に、抗不安薬エチゾラムの効果を検証するために、エチゾラムを経口投与 (5mg/kg) したマウスにおける3つの恐怖反応 (忌避・不動行動および体表面温度) を測定した。薬剤非投与マウスには溶媒のみを経口投与した。

【結果】

P-mix により誘起される恐怖情動を定量化するために、マウスを P-mix に暴露したところ、忌避・不動・危険確認行動の増加、毛繕い・立ち上がり行動の減少、体表面温度の低下、ストレスホルモン放出の増加が見られた³⁾。これらの恐怖反応は、P-mix 非存在下の約3~8倍に変化した。次に、エチゾラムの効果の検討のため、エチゾラムを投与したマウスの恐怖反応を測定し、非投与マウスと比較した。その結果、投与マウスでは、匂い接近行動の減少は6分の1程度に抑制された。また、体表面温度の低下は見られなかった。これらの結果は、エチゾラムが恐怖反応を抑制したことを示唆した。また興味深いことに、投与マウスの不動行動は、P-mix に暴露していなくても約4倍に増加し、P-mix によって半分ほどに低下した。このような不動行動の変化は、非投与マウスとは逆であった。以上より、エチゾラムの効果の評価において、不動行動は指標には不向きであるが、匂い接近行動および体表面温度は指標に適することが示唆された。

【考察】

本研究で扱った匂いによって誘起される生得的恐怖は、条件付けによって想起させる恐怖や高所等で生じる不安とは異なる性質を持つ可能性があるため、この先天的恐怖に関する研究は恐怖や不安といった情動の研究分野に新たな知見をもたらすと期待する。本研究では、7個の恐怖反応を指標として、恐怖情動を定量的に評価する系を確立した。7個の指標は P-mix によって P-mix 非存在下の約3~8倍に変化するので、抗不安薬の効果の定量的評価は十分に可能であると考えられる。また、行動や生理的变化である体表面温度は生きた動物で非侵襲的に測定できるので、これらを指標とすることは実験動物を用いた研究倫理の観点から

も優れていると考えられる。今回見られたエチゾラムの投与のみによって大きく変化した不動行動は指標としては不適だが、この結果はエチゾラムの副作用である眠気や倦怠感を反映しているのかもしれない⁴⁾。他の薬物においても、投与のみで変化する評価指標も存在し得るので、複数の指標から総合的にその効果を評価することの重要性が示唆される。今後、エチゾラムについては他の指標の測定を行い、さらに近年 PTSD の新規薬剤としての可能性が期待されている Neuropeptide Y や melanocortin 4 receptor antagonist (HS014) などの神経ペプチドについても、この系を用いて評価したいと考えている。

【謝 辞】

エチゾラムを提供していただきました田辺三菱製薬株式会社に感謝いたします。また、研究遂行に精力的に協力していただきました本学医学部学生の榎間光理さん、長谷川楓さん、宮崎世理さんに深謝いたします。

【文 献】

- 1) Osada K, Kurihara K, Izumi H et al.: Pyrazine analogues are active components of wolf urine that induce avoidance and freezing behaviours in mice. PLoS ONE 8, e61753 (2013)
- 2) Takahashi LK, Nakashima BR, Hong H et al.: The smell of danger: a behavioral and neural analysis of predator odor-induced fear. Neurosci. Biobehav. Rev. 29, 1157-1167 (2005)
- 3) 宮園貞治, 笹島仁, 野口智弘ほか: マウスにおける主嗅覚系および鋤鼻系を介した天敵臭ピラジン類に対する恐怖反応の制御. 日本味と匂学会第 49 回大会プログラム・予稿集 p129 (2015)
- 4) Lee-Chiong TL Jr: Sleep Medicine: Essentials and Review. USA: Oxford University Press (2008)