

セロトニン神経の脳代謝調節機能と病態関与の解明

夏堀晃世

公益財団法人 東京都医学総合研究所 精神行動医学研究分野 睡眠プロジェクト

【研究の背景】

脳のエネルギー代謝活動は、細胞のエネルギー分子である ATP(アデノシン三リン酸)の合成を通じて様々な神経活動をエネルギー面で支えると同時に、神経発火活動に対する調節機能を持つ。我々は最近、ATP の蛍光プローブを発現させたマウス脳の生体計測により、動物の睡眠-覚醒に伴い大脳皮質の神経細胞内 ATP 濃度が変動し、エネルギー需要の高まる動物の覚醒時に増加することを報告した¹⁾。さらにオプトジェネティクスを用いたセロトニン神経の活動操作により、マウスの覚醒時にみられる縫線核セロトニン神経の活動が、投射先皮質で神経細胞内 ATP 濃度を増加させる因果関係を見出した。このことは、ATP 合成に向けた脳のエネルギー代謝活動が、セロトニン神経による制御を受けている可能性を強く示唆する。

【目 的】

本研究は、気分障害などセロトニン神経と関連した精神疾患に共通する中間病態として、“セロトニン神経系変容による脳代謝異常”という新たな病態仮説を提唱し、マウスを用いてその生体検証を行うことを目的とした。セロトニン神経活動操作と脳代謝活動の生体計測を組み合わせ、セロトニン神経が投射先で神経の細胞内 ATP 濃度を調節する仕組みと、セロトニン系変容によるその異常を明らかにすることで、セロトニン関連疾患の新たな病態解明と治療薬開発の礎となることを目指した。

【方 法】

セロトニン神経選択的に興奮性光感受性チャネルを発現させた Tph2-ChR2 マウス²⁾と、ATP の蛍光プローブを皮質興奮性神経に発現させた Thy1-ATeam マウス³⁾を交配させた動物を実験に用いた。マウスの縫線核へ留置した光ファイバを用いた照射によりセロトニン神経を選択的に活性化させ、それに対する皮質興奮性神経の細胞内 ATP 濃度変動を ATP プローブの蛍光シグナル変動として、皮質へ留置したもう1本の光ファイバを介してファイバフォトメトリー (オリンパス社製)⁴⁾を用いて計測した。さらに、この皮質ファイバの側管から計測領域へ薬物の局所投与を行った。皮質のアストロサイト活動(細胞内 Ca²⁺活動と cAMP 活動)計測は、Tph2-ChR2 マウスの皮質へ GFAP プロモーターに接続した GCamp (Ca²⁺蛍光プローブ)あるいは PinkFlamindo (cAMP 蛍光プローブ)を搭載したアデノ随伴ウイルスを感染させ、光ファイバを用いて各蛍光プローブの計測を行った。皮質の細胞外乳酸・グルコース濃度計測には、酵素電極 (Pinnacle 社製)を使用した。皮質血流計測は、ドップラー血流計 (ユニークメディカル社製)による経頭蓋計測を行った。これらの生体計測は全て頭部固定下(馴化後)の無麻酔状態のマウスを用い、脳波・筋電図計測によるモニタリング下で実施した。

セロトニン神経活動の選択的抑制には、Sert-Cre マウスの縫線核へ flex-hM4D (Gi)-mCherry を搭載したアデノ随伴ウイルスを感染させ、CNO を腹腔内投与して 1 時間後より蛍光プローブ計測あるいは行動試験を実施した。行動試験のビデオモニタリングと解析には ANY-maze (室町工業株式会社)を使用した。

【結 果】

我々はこれまでの予備実験で、Tph2-ChR2 マウスを用いた縫線核セロトニン神経の選択的活性化により、皮質興奮性神

経の細胞内 ATP 濃度が増加することを見出した。このことから本研究では、セロトニン神経による脳代謝活動の調節機序として、投射先である大脳皮質において、セロトニンがグリア細胞の一種であるアストロサイトへ作用し、2 種類の代謝調節活動（神経への乳酸供給活動と局所血流調節）を制御することで神経の細胞内 ATP 濃度を調節するという仮説を立て、これを生体検証した。まず、Tph2-ChR2 マウスを用いてセロトニン神経を選択的に光活性化させると、皮質のアストロサイト活動（細胞内 Ca^{2+} シグナルと cAMP シグナル）が増加し、さらに皮質の細胞外乳酸濃度が増加することを明らかにした。また、このアストロサイトの乳酸供給活動を薬理的に阻害すると、セロトニン神経活性化に伴う皮質神経 ATP 濃度増加が抑制されることを見出した。次に、セロトニン神経の光刺激に伴う皮質血流応答と細胞外グルコース濃度動態を生体計測したところ、両者は主に抑制性の応答を示した。このことから、セロトニン神経は皮質で神経の主たるエネルギー源をグルコースから乳酸へ変化させ、神経細胞内 ATP 増加に働くことが示唆された。

本研究では次に、セロトニン神経活動を抑制したマウスの脳代謝異常と行動異常を解明することで、セロトニン関連疾患における新たな病態モデルの提唱を目指した。DREADD システムを用いて縫線核セロトニン神経の活動を持続的に抑制可能なマウス（Sert-Cre::flex-hM4D(Gi)）を作成し、当マウスにおける覚醒時の皮質神経 ATP 濃度増加が減弱していることを確認した。次に、このマウスに行動試験を課して行動フェノタイプ異常を調査したが、同マウスは空間記憶試験と尾懸垂試験（抑うつ機能試験）において明らかな異常を示さなかった。そのため今後、縫線核セロトニン神経の異常活性化による不安障害モデルマウスの検証を行い、当該マウスの脳代謝活動異常の病態解明と、薬理的レスキュー操作を通じた新しい治療法提案に挑戦する予定である。

【考 察】

本研究では、気分障害や不安障害など複数の精神疾患への関与が示唆されるセロトニン神経が、アストロサイト活動調節を介した脳代謝調節機能を持つことを明らかにした。脳のエネルギー代謝活動は、本研究が着目するセロトニン神経をはじめ、複数の神経による統合的制御を受けて変動し、神経発火活動や動物の脳機能調節に働くことが予想される。今後、この神経活動と脳代謝活動の相互関連性が、正常な脳機能や多数の精神神経疾患の病態へ関与することの証明を目指す。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究は、気分障害や不安障害などセロトニン関連精神疾患の中間病態として“セロトニン神経系変容による脳代謝異常”という新たな病態仮説を提唱し、その検証を目指す点において高い臨床的意義を持つ。本研究計画は、本報告書作成の時点で未だ完了していないものの、達成の暁には、これらの精神疾患の新しい治療法開発に直接繋がるものが期待される。

【参考・引用文献】

本研究の成果は以下の学術誌に掲載予定である。

- Natsubori, A., et al. Serotonergic neurons control cortical neuronal intracellular energy dynamics by modulating astrocyte-neuron lactate shuttle. *iScience*, 2023, in press.

参考文献:

1. Natsubori, A., et al. Intracellular ATP levels in mouse cortical excitatory neurons varies with sleep-wake states. *Commun Biol.* 7;3(1):491, 2020.
2. Ohmura, Y, et al. "Optogenetic activation of serotonergic neurons enhances anxiety-like behaviour in mice." *International Journal of Neuropsychopharmacology* 17(11), 1777-1783, 2014.
3. Trevisiol, A., et al. "Monitoring ATP dynamics in electrically active white matter tracts." *Elife* 6: e24241, 2017.
4. Natsubori, A., et al. "Ventrolateral striatal medium spiny neurons positively regulate food-incentive, goal-directed behavior independently of D1 and D2 selectivity." *Journal of Neuroscience* 37.10: 2723-2733, 2017.