

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 17 日現在

機関番号：82611

研究種目：基盤研究(C) (特設分野研究)

研究期間：2016～2019

課題番号：16KT0199

研究課題名(和文) ヒト大うつ病障害診断バイオマーカーの選定評価

研究課題名(英文) Evaluation of biomarkers for major depressive disorder

研究代表者

惣谷 和広 (Sohya, Kazuhiro)

国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター・神経研究所 疾病研究第三部・室長

研究者番号：80415207

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：現在、うつ病をはじめとして精神疾患の診断は、医師による患者の主観的症状の判断や問診に基づいており、生物学的所見に基づく定量性や客観性を持った診断や予防が非常に困難な状況にある。この状況を打開するためには、疾患患者から同定された疾患代謝産物によって脳内がどのような生理的变化を起こすのか、脳内反応を直接モニターし、神経生理学的にヒトうつ病疾患診断バイオマーカーを評価することが必要であると考えられる。また、そのためにはうつ病モデル動物の作成と生理学的な評価系の構築も必要である。本研究では、慢性拘束ストレスモデルの作成方法を確立し、ストレスによる脳活動を評価するための解析方法を確立した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

大うつ病性障害の動物モデルとして、慢性拘束モデルマウスを確立した。その結果、慢性拘束ストレス負荷によってマウスでは、ストレスホルモンであるコルチコステロンの上昇に加え、抗ストレスホルモンであるテストステロンの上昇が検出されたことから、生体反応はストレス反応だけでなく、ストレスに対する回復反応が同時に起こっていることが示唆された。また、ストレスによって脳活動がどのように変化するかを評価するために、個体差のあるマウスの脳を規格化し定量評価する方法を確立した。この方法によって、異なった個体間でも脳活動を定量評価できるようになった。

研究成果の概要(英文)：Currently, the diagnosis of mental illnesses such as depression is based on the doctor's judgment of subjective symptoms and interviews with patients, and it is extremely difficult to make a diagnosis and prevention with quantitative and objectivity based on biological findings. In order to overcome this situation, it would be necessary to directly monitor the brain and evaluate physiologically the human biomarker for the diagnosis of depression in neurophysiology. In addition, for that purpose, it is necessary to create a model animal for depression and to construct a physiological evaluation method. In this study, we established a method for creating a chronic restraint stress model and an analytical method for assessing stress-induced brain activity.

研究分野：神経生理学 基礎精神医学

キーワード：うつ病 ストレス 脳機能イメージング 慢性拘束ストレスモデル

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

現在、うつ病疾患の解明は大きな課題となっている。しかしながら、うつ病疾患の診断は、医師による患者の主観的症状の判断や問診に基づいており、生物学的所見に基づく定量性や客観性を持った診断や予防が非常に困難な状況にある。そこでこれらを克服するために、妥当性のある有用な診断バイオマーカーを確立することが重要であると考えられる。しかしながら他の疾患と比べてうつ病疾患の場合、他の疾患で見られるような生物学的な疾患病態について、未だ明らかになっていないことが多い。よって、ヒトうつ病疾患患者の血漿や脳脊髄液成分由来のオミックス解析から様々なユニークな疾患代謝産物が次々と同定されてきているにもかかわらず、動物レベルでの研究手段が限られているため、同定された疾患代謝産物の機能とうつ病疾患の病態との関係性を明らかにすることが困難な状況にある。すなわち、ヒトうつ病疾患の診断や治療経過判断に向けた妥当性の高い有用なヒトうつ病疾患診断バイオマーカーの確立に向けて大きな障害となっているのである。この状況を打開するためには、動物モデルと疾患症状を精査し、明らかになった知見をヒトでさらに再考する必要がある。そのためには、疾患患者から同定された疾患代謝産物によって脳内がどのような生理的变化を起こすのか、脳内反応を直接モニターし、神経生理学的にヒトうつ病疾患診断バイオマーカーを評価することが必要であると考えられる。また、これを実現するためには安定したうつ病モデル動物の作成と今までに行われてきた従来の動物の行動学的評価に加えて、今まで行われてこなかった神経生理学的な評価系の構築、例えば *in vivo* による脳活動計測法など、脳の活動や形態を直接的に観測する方法の構築も必要である。

2. 研究の目的

本研究では、うつ病の生物学的所見に基づく定量性や客観性を持った診断や予防を目指し、妥当性のある有用な診断バイオマーカーを確立するためにヒトうつ病疾患患者の血漿や脳脊髄液成分由来のオミックス解析から同定されてきているおよそ 200 種類のうつ病疾患代謝産物について、これらの疾患代謝産物を網羅的にマウスに投与し、マウスがうつ様行動を誘発するのか、また誘発した場合にマウス脳内でどのような病態変化が観察されるのか明らかにすることを目的とする。また、うつ病モデルマウスでの疾患代謝産物を同定し、ヒトうつ病疾患代謝産物と比較解析を将来的に行う目的で、作成が難しいとされる慢性拘束マウスの安定な作成方法を確立する。さらには *in vivo* による脳活動計測法によって疾患代謝産物の投与やストレス負荷によって脳の活動がどのように変化するのか直接的に観察し解析するための方法も確立する。

3. 研究の方法

本申請研究課題では、連携研究者である功刀浩博士と服部功太郎博士らによってヒトうつ病疾患患者由来の血漿成分もしくは脳脊髄液成分から同定されたおよそ 200 種類の疾患代謝産物群を網羅的にマウスの脳室・脳実質内投与もしくは血液内投与する。そしてこれら疾患代謝産物投与による脳機能とうつ様行動への影響について、動物行動薬理学的試験と *in vivo* 脳機能イメージング法によって解析を行う。これにより妥当性の高い臨床応用にむすびつく有用なヒトうつ病疾患診断バイオマーカーを確立させる。また、有用なうつ病疾患診断バイオマーカーの評価には、モデル動物におけるバリデーションが必要である。そこでラットに比べ作成が難しいとされる慢性拘束マウスの安定な作成方法を確立する。さらにはうつ病疾患代謝産物投与とストレス負荷による個体間での脳活動変化を *in vivo* 脳機能イメージング法によって評価するための脳画像解析方法の開発も行う。これによって、個体間の違いや週令の違いなどによる脳の大きさの違い

いを補正でき、個体間の脳活動の大きさや活動パターンを定量的に評価できる。

4. 研究成果

ヒトうつ病疾患患者由来の血漿成分もしくは脳脊髄液成分から同定されたおよそ 200 種類の疾患代謝産物群について、投与によって明らかにうつ様行動を誘発したものは今現在特定できていない。しかしながら、なぜ脳脊髄中にそれらの代謝産物が蓄積されてくるのかを解析することで、うつ病診断バイオマーカーの確立に至らないまでもうつ病の病態に迫ることが可能ではないかと考えた。そこで本研究は、フィブリノーゲンに着目し、フィブリノーゲンが脳内に存在するとミクログリアを活性化させて脳内炎症を誘発することから、現在、フィブリノーゲンによる脳内炎症とうつ様行動の関連性について解析中である。

うつ病の基礎生物学的研究として、慢性拘束ストレスモデルの作成方法を確立し、ストレスによる脳活動を評価するための解析方法を確立した。大うつ病性障害の動物モデルとしては、慢性拘束モデルマウスの作成を試み確立した。その結果、慢性拘束ストレス負荷によってマウスでは、体重の減少や副腎髄質の肥大といった生理的なストレス反応に加え、生化学的解析によってストレスホルモンであるコルチコステロンの上昇が明らかになった。さらに驚くべきことに抗ストレスホルモンであるテストステロンの上昇が検出されたことから、生体反応はストレス反応だけでなく、ストレスに対する回復反応が同時に起こっていることが示唆された。また、これらのストレス反応は C57BL/6J マウスと BALB/c マウスで比較した場合、ストレス反応は C57BL/6J マウスよりも BALB/c マウスのほうで有意に大きかったが、抗ストレス反応は、C57BL/6J と BALB/c で同等であった。このことから、作成が難しいとされている慢性拘束ストレスモデルマウスの作成には、BALB/c マウスのほうが作成しやすいことが示唆された。

参考文献：

Comparison of physiological and behavioral responses to chronic restraint stress between C57BL/6J and BALB/c mice. Tsuchimine S, Matsuno H, O'Hashi K, Chiba S, Yoshimura A, Kunugi H, Sohya K. *Biochem Biophys Res Commun.* 2020 Feb 15;S0006-291X(20)30341-7.

ストレスによって脳活動がどのように変化するかを評価するために、個体差のあるマウスの脳を規格化し定量評価する方法が必要である。そこで、本研究では、この方法によって、異なった個体間での脳活動を長期間にわたって計測し、その計測結果から脳全体の脳活動や活動様式を定量評価できる解析方法を確立した。

参考文献：

Construction of the common cortical space by spontaneous activity and its application in the mouse cortex. O'Hashi K, Sohya K, Matsuno H, Tsuchimine S, Kunugi H. *Biochem Biophys Res Commun.* 2019 Jun 11;513(4):869-874.

以上、研究期間内に論文発表できた研究成果として、うつ病診断バイオマーカーを確立するために必要な基礎生物学的方法を遂行した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 O'Hashi K, Sohya K, Matsuno H, Tsuchimine S, Kunugi H.	4. 巻 513
2. 論文標題 Construction of the common cortical space by spontaneous activity and its application in the mouse cortex.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun.	6. 最初と最後の頁 869-874
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2019.04.048.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Itokazu T, Hasegawa M, Kimura R, Osaki H, Albrecht UR, Sohya K, Chakrabarti S, Itoh H, Ito T, Sato TK, Sato TR.	4. 巻 9
2. 論文標題 Streamlined sensory motor communication through cortical reciprocal connectivity in a visually guided eye movement task.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 338 352
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-017-02501-4.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Li S, Wang L, Tie X, Sohya K, Lin X, Kirkwood A, Jiang B.	4. 巻 37
2. 論文標題 Brief Novel Visual Experience Fundamentally Changes Synaptic Plasticity in the Mouse Visual Cortex.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 9353 9360
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1523/JNEUROSCI.0334-17.2017.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Sohya K, O'Hashi K, Toma H, Kunugi H.	4. 巻 Epub ahead of print
2. 論文標題 Different effects of rotigotine and ropinirole on cholinergic transmission in the mouse medial prefrontal cortex.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Psychogeriatrics.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/psyg.12254.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hasegawa M, Majima K, Itokazu T, Maki T, Albrecht UR, Castner N, Izumo M, Sohya K, Sato TK, Kamitani Y, Sato TR.	4. 巻 18
2. 論文標題 Selective Suppression of Local Circuits during Movement Preparation in the Mouse Motor Cortex.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Cell Rep.	6. 最初と最後の頁 2676 2686
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2017.02.043.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Tsuchimine Shoko, Matsuno Hitomi, O'Hashi Kazunori, Chiba Shuichi, Yoshimura Aya, Kunugi Hiroshi, Sohya Kazuhiro	4. 巻 525
2. 論文標題 Comparison of physiological and behavioral responses to chronic restraint stress between C57BL/6J and BALB/c mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 33 ~ 38
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.02.073	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

[学会発表] 計3件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 間島 慶、長谷川 征史、糸数 隆秀、眞木 崇州、Albrecht Urban-Raphael、Castner Nora、出雲 麻里子、惣谷 和広、佐藤 達雄、神谷 之康、佐藤 隆
2. 発表標題 Sparse circuit activity during motor preparation in mice
3. 学会等名 日本神経科学学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 千葉 秀一、土嶺 章子、吉村 文、鈴木 仁美、大橋 一徳、惣谷 和広、功刀 浩
2. 発表標題 The effect of mouse strain and duration of stress exposure on the depression-like behavioral changes by repeated restraint stress
3. 学会等名 日本神経科学学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 功刀浩、惣谷和広、大橋一徳、當麻秀機
2. 発表標題 ドパミン作動薬（抗パーキンソン薬）による大脳皮質アセチルコリン濃度変化
3. 学会等名 日本老年精神医学会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考