

令和元年6月4日現在

機関番号：15501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16380

研究課題名(和文) ストレス脆弱性モデルマウスを用いたマイクロRNAのうつ病態に対する役割の解析

研究課題名(英文) MicroRNA profiling in stress-resilient and stress-susceptible mice

研究代表者

樋口 文宏 (HIGUCHI, Fumihiro)

山口大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：60711249

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、マイクロRNAを介した遺伝子発現調節機構とストレス適応機構との関連を検討した。その結果、B6マウスはストレス負荷による行動変容を認めなかった。一方、BALBマウスはストレス負荷後に社交性が低下していた。次に、2系統のマウスのストレス負荷後の内側前頭前野マイクロRNA発現変動をsmall RNA-seq法により検討した。その結果、ストレス耐性マウスに特徴的なマイクロRNAを9種類、ストレス感受性マウスに特徴的なマイクロRNAを17種類抽出できた。本研究によって、ストレス適応マウスと不適応マウスに特異的に発現変動するマイクロRNAを抽出することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によってストレス適応・不適応マウスの脳内マイクロRNA発現を網羅的に検証したことで、ストレス感受性・レジリエンスに関与する候補マイクロRNAを抽出することができた。これは、気分障害や不安障害などを含むストレス性精神疾患の発症機序解明につながる可能性がある。また、これら精神疾患の治療・再発予防に対する新たな治療法の開発が期待できる。

研究成果の概要(英文)：MicroRNAs (miRNAs) are small noncoding RNA molecules that regulate gene expression post-transcriptionally. In this study, we measured miRNAs levels in the medial prefrontal cortex of two strains of mice, each of which demonstrate different behavioral responses to stress. We found that stressed B6 mice show normal sociality, whereas DBA mice exposed to smSDS exhibit a significantly less social interaction than non-defeated DBA mice. Thus, we developed B6 and DBA mice as stress-resilient and stress-susceptible strains, respectively. We then performed small RNA-seq analysis to measure miRNA levels within the medial prefrontal cortex in stressed and non-stressed B6 and DBA mice. Small RNA-seq data revealed a unique change in miRNA expression between stress-resilient B6 and stress-susceptible DBA mice. This study suggests that miRNA expression, influenced by genetic and environmental factors, may contribute to behavioral responses to stress.

研究分野：分子精神医学

キーワード：ストレス うつ病 マイクロRNA 動物モデル 遺伝子発現 ストレスレジリエンス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

気分障害や不安障害は遺伝的要因と環境要因が相互作用して発症する多因子疾患と考えられている。大うつ病性障害は抑うつ気分と興味・喜びの減退を主症状とする疾患であり、その遺伝率は約 37%と想定されている(1)。これは、統合失調症や双極性障害における遺伝率(70-80%)(1)に比して低いことから、気分障害・不安障害の発症に対する環境要因の重要性が指摘されている(2,3)。

気分障害の発症機序仮説の1つに、脳神経細胞の構造的可塑性異常による神経ネットワーク障害といった“神経可塑性障害仮説”が提唱されている(2,3)。事実、うつ病患者の脳に、機能的変化のみならず形態的变化が生じていることが報告されている。その代表的な所見としては、海馬の萎縮や前頭前野の神経細胞数の減少などがあげられる(4,5)。また、慢性ストレスを負荷したストレスモデル動物においても、海馬神経細胞の形態異常や樹状突起のスパイン密度の減少や神経新生の低下が報告されている(6-9)。これらの知見から、気分障害の病態における神経細胞の構造的・形態的变化をともなう神経可塑性異常が示唆されている。

神経可塑性には脳内の遺伝子発現調節機構が重要な役割を担っている。遺伝的要因やストレスなどの環境要因によって遺伝子発現調節機構に異常が生じると、細胞機能さらには神経ネットワークが変容し、脳高次機能に影響を及ぼす(10)。気分障害患者死後脳や慢性ストレス負荷動物の脳内において、神経可塑性に関わる遺伝子ならびにそれら遺伝子の発現量を制御する転写因子の発現異常が多数報告されている(11-14)。これらの知見は、気分障害の病態における遺伝子発現調節異常の存在を示唆している。最近、DNAの塩基配列に依存しないエピジェネティックな遺伝子発現調節異常とうつ病との関連が着目されている(15,16)。エピジェネティクスとは、DNAを構成する塩基配列上の single nucleotide polymorphism (SNP)などの違いによる遺伝子発現の変化ではなく、DNAメチル化やヒストン修飾(アセチル化、メチル化、リン酸化など)のようなDNA塩基配列の変化とは無関係な後成的な化学修飾によるクロマチン構造の変化を介した遺伝子の転写調節機構と理解されている。事実、気分障害患者死後脳や慢性ストレス負荷動物において、神経可塑性に関わる様々な遺伝子上のDNAメチル化やヒストン修飾の変化が認められること(14,16)、一部の気分安定薬や抗うつ薬にこれらエピジェネティクス異常を修復させる作用があることが報告されており、ストレス関連精神疾患におけるエピジェネティクス制御の関与が示唆されている。また、精神疾患に対するエピジェネティクスの関与は、例えば一卵性双生児における不一致例などからもその重要性が指摘されており、GeneticsとPhenotypeをブリッジするメカニズムとして注目されている。

最近、タンパク質をコードしていない低分子の非コードRNA(マイクロRNA)が標的遺伝子 mRNA のタンパク質への翻訳を阻害することで様々な細胞機能に影響を及ぼしていることが明らかとなりつつある。興味深いことに、ストレス負荷や抗うつ薬によって発現が変動するマイクロRNAが存在する(17)。さらに気分障害患者死後脳や末梢白血球において発現変動を示すマイクロRNAも報告されている(18)。このように、気分障害の発症機序ならびに向精神薬の作用機序に対するマイクロRNAの役割が注目されている。そこで本研究では、マイクロRNAを介した遺伝子発現調節機構とストレス適応機構との関連を検討した。

2. 研究の目的

上述のとおり、精神的・肉体的ストレスとうつ病との関連がヒトならびに動物実験によ

って確認され、うつ病態への環境要因(ストレス)による遺伝子発現調節異常の関与が注目されている。さらに、ストレス曝露にともなう脳内 DNA メチル化やヒストン脱アセチル化酵素等のエピジェネティック因子を介した遺伝子発現異常のうつ病態への関与が示唆されている。しかし、エピジェネティクス因子のうつ病態に対する役割の解析例は相次いでいるものの、遺伝子発現の転写後調節に関わるマイクロ RNA のうつ病態への役割に対する解析は未だ進んでいない。

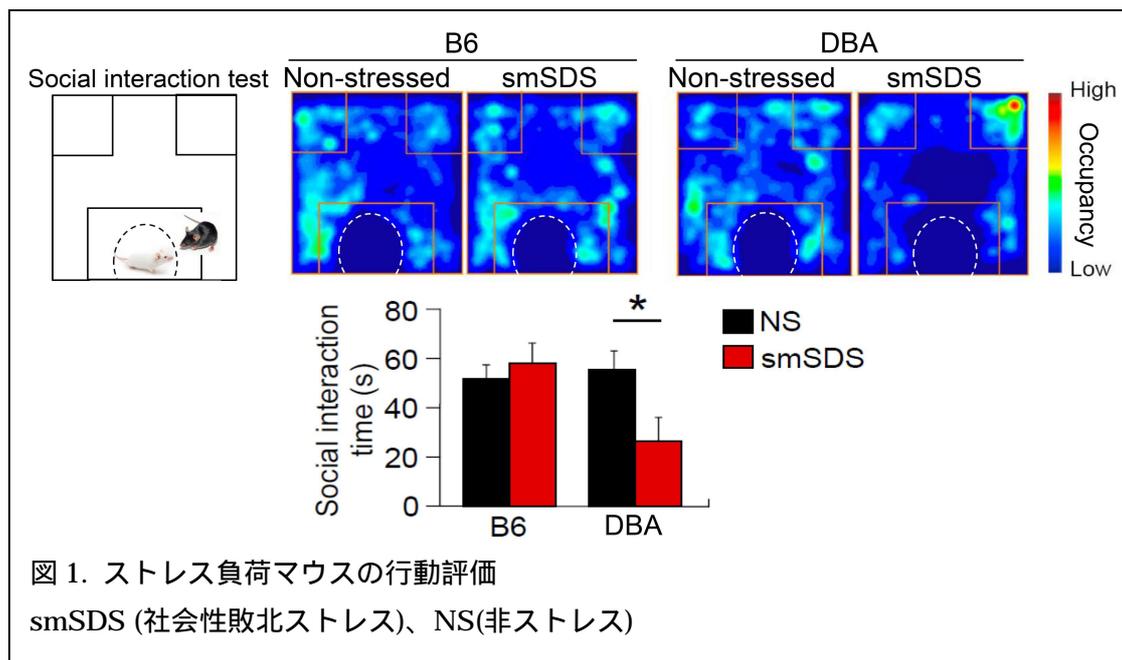
これまでの研究成果から、海馬マイクロ RNA-124 を介した神経可塑性制御がストレス反応性に密接に関わっていることが示唆された(19)。しかし、脳内には数百～数千種類のマイクロ RNA が発現していると推測されているため、マイクロ RNA-124 以外にも神経可塑性やうつ病態に関わるマイクロ RNA が存在する可能性は十分にある。また、最近当研究室では内側前頭前野領域がストレス耐性・脆弱性に重要な脳領域であることを化学遺伝学的手法を用いて明らかにした(未発表)。しかし、うつ病モデルマウス内側前頭前野領域におけるマイクロ RNA の発現変動については不明である。そこで本研究では、次世代シーケンス解析を行うことで、ストレス耐性・脆弱性(うつ状態)マウスの内側前頭前野領域において発現変動しているマイクロ RNA を網羅的に検討した。

3. 研究の方法

ストレス耐性マウス(C57BL/6J、以下 B6 マウス)とストレス脆弱性マウス(DBA/2、以下 DBA マウス)に社会性敗北ストレスを1日5分、5日間負荷した。実験には8週齢雄性マウスを使用した。各系統のマウスの内側前頭前野を摘出し、RNA を抽出、small RNA-seq に供した。

4. 研究成果

ストレス負荷マウスの行動を社交性試験により評価した。その結果、B6 マウスはストレス負荷による行動変容を認めなかった。一方、BALB マウスはストレス負荷後に社交性が低

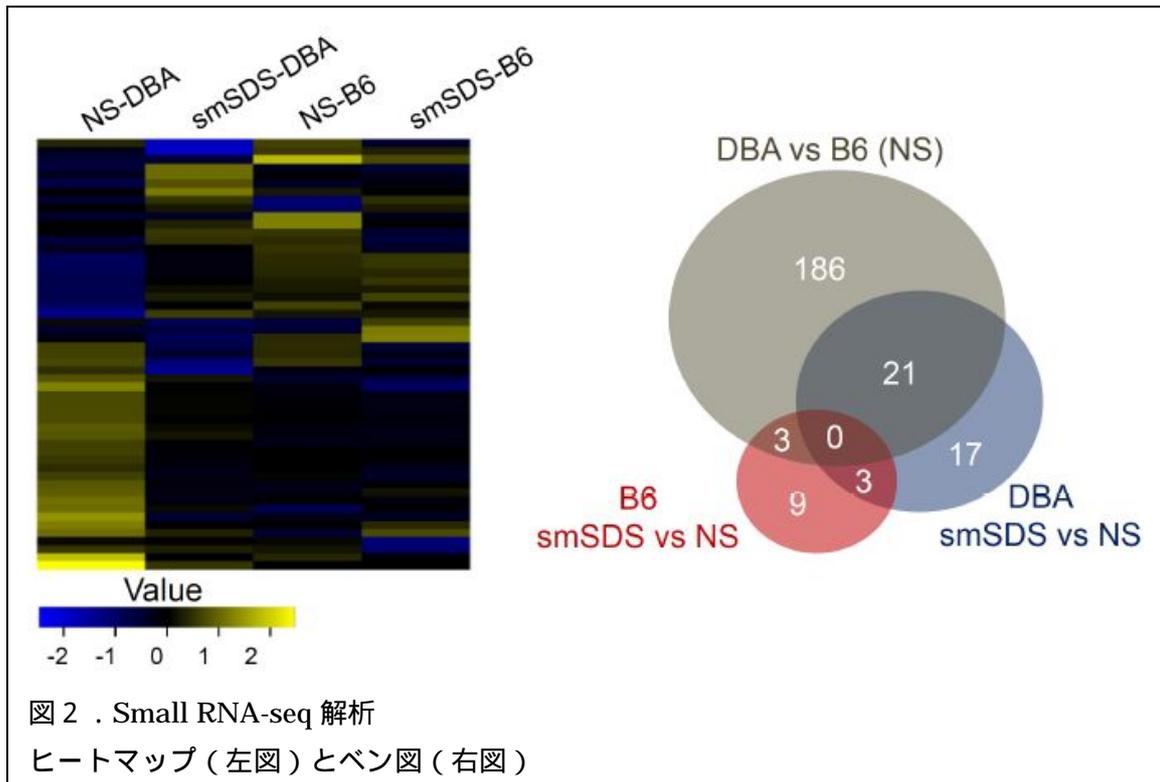


下していた(図1)。

次に、2系統のマウスのストレス負荷後の内側前頭前野マイクロ RNA 発現変動を small RNA-seq 法により検討した。その結果、ストレス耐性マウスに特徴的なマイクロ RNA を 9

種類、ストレス感受性マウスに特徴的なマイクロ RNA を 17 種類抽出できた (図 2)。

本研究によって、ストレス適応マウスと不適応マウスに特異的に発現変動するマイクロ RNA を抽出することができた。今後、発現変動を示したマイクロ RNA の行動・神経可塑性制御に対する役割をさらに詳細に検討することで、マイクロ RNA のうつ病態への関与が明らかとなり、新たな治療法の確立につながることを期待できる。



< 引用文献 >

- 1) Sullivan, P.F., Neale, M.C., and Kendler, K.S. (2000). Genetic epidemiology of major depression: review and meta-analysis. *Am J Psychiatry* 157, 1552-1562.
- 2) Krishnan, V., and Nestler, E.J. (2008). The molecular neurobiology of depression. *Nature* 455, 894-902.
- 3) Nestler, E.J., Barrot, M., DiLeone, R.J., *et al.* (2002). Neurobiology of depression. *Neuron* 34, 13-25.
- 4) MacQueen, G., and Frodl, T. (2011). The hippocampus in major depression: evidence for the convergence of the bench and bedside in psychiatric research? *Mol Psychiatry* 16, 252-264.
- 5) Price, J.L., and Drevets, W.C. (2010). Neurocircuitry of mood disorders. *Neuropsychopharmacology* 35, 192-216.
- 6) Abe-Higuchi, N., Uchida, S., Yamagata, H., *et al.* (2016). Hippocampal Sirtuin 1 Signaling Mediates Depression-like Behavior. *Biol Psychiatry* 80, 815-826.
- 7) Duman, R.S., and Aghajanian, G.K. (2012). Synaptic dysfunction in depression: potential therapeutic targets. *Science* 338, 68-72.
- 8) Higuchi, F., Uchida, S., Yamagata, H., *et al.* (2016). Hippocampal MicroRNA-124 Enhances Chronic Stress Resilience in Mice. *J Neurosci* 36, 7253-7267.
- 9) Watanabe, Y., Gould, E., and McEwen, B.S. (1992). Stress induces atrophy of apical dendrites of hippocampal CA3 pyramidal neurons. *Brain Res* 588, 341-345.
- 10) Feder, A., Nestler, E.J., and Charney, D.S. (2009). Psychobiology and molecular genetics of resilience. *Nat Rev Neurosci* 10, 446-457.
- 11) Fuchsova, B., Alvarez Julia, A., Rizavi, H.S., *et al.* (2015). Altered expression of neuroplasticity-related genes in the brain of depressed suicides. *Neuroscience* 299, 1-17.
- 12) Kang, H.J., Adams, D.H., Simen, A., *et al.* (2007). Gene expression profiling in postmortem prefrontal cortex of major depressive disorder. *J Neurosci* 27, 13329-13340.
- 13) Ota, K.T., Liu, R.J., Voleti, B., *et al.* (2014). REDD1 is essential for stress-induced synaptic loss and depressive behavior. *Nat Med* 20, 531-535.
- 14) Uchida, S., Hara, K., Kobayashi, A., *et al.* (2011). Epigenetic status of Gdnf in the ventral

- striatum determines susceptibility and adaptation to daily stressful events. *Neuron* 69, 359-372.
- 15) Nestler, E.J. (2009). Epigenetic mechanisms in psychiatry. *Biol Psychiatry* 65, 189-190.
 - 16) Akbarian, S., and Nestler, E.J. (2013). Epigenetic mechanisms in psychiatry. *Neuropsychopharmacology* 38, 1-2.
 - 17) Issler O and Chen A: Determining the role of microRNAs in psychiatric disorders. *Nat Rev Neurosci* 16: 201-212, 2015.
 - 18) Issler O, Haramati S, Paul ED, et al.: MicroRNA 135 is essential for chronic stress resiliency, antidepressant efficacy, and intact serotonergic activity. *Neuron* 83: 344-360, 2014.
 - 19) Higuchi F, Uchida S, Yamagata H, Abe-Higuchi N, Hobara T, Hara K, Kobayashi A, Shintaku T, Itoh Y, Suzuki T, Watanabe Y: Hippocampal MicroRNA-124 Enhances Chronic Stress Resilience in Mice. *The Journal of Neuroscience* 36(27): 7253-7267, 2016

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計1件)

Yamagata Hiroataka, Uchida Shusaku, Matsuo Koji, Harada Kenichiro, Kobayashi Ayumi, Nakashima Mami, Higuchi Fumihiko, Watanuki Toshio, Matsubara Toshio, Watanabe Yoshifumi. Altered plasma protein glycosylation in a mouse model of depression and in patients with major depression. *Journal of Affective Disorders* 233: 79-85, 2018 doi: 10.1016/j.jad.2017.08.057 査読有

〔学会発表〕(計1件)

樋口文宏. ストレス適応機構に対するヒストン脱アセチル化酵素の役割の解析. 第39回日本生物学的精神医学会. 2017年

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者 なし

(2)研究協力者 なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。