

令和 2 年 5 月 25 日現在

機関番号：34519

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K16404

研究課題名(和文)うつ病へのインターロイキン18の作用解明と新規治療戦略の模索

研究課題名(英文) The investigation between depression and interleukin 18 targeting for new therapy.

研究代表者

山西 恭輔 (Yamanishi, Kyosuke)

兵庫医科大学・医学部・特任助教

研究者番号：50626786

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：IL-18欠損マウスは記憶力障害や意欲低下などうつ病様行動変化を呈した。メカニズムとしてIL-18が欠損する事で海馬のミトコンドリアが変性し海馬機能不全から起こった可能性が挙げられた。2つ目に海馬にて、未分化神経細胞が減少しているだけでなく、成熟した神経細胞もIL-18欠損下では減少が発見された。3つ目にミトコンドリア機能不全により本来であればエネルギー供給が正常に起こらず細胞死(アポトーシス)が誘導されるはずであるが、細胞死は誘導されていなかった。これらに組み換えIL-18を脳室内へ投与したところ、未分化神経細胞は一定の改善が見られた。これらから今後治療応用が可能である可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

炎症性サイトカインのインターロイキン18(IL-18)は、免疫機能に深く関与しているが、近年うつ病との関連も言われている。本研究よりIL-18が中枢神経細胞に深い関わりがあり、IL-18が欠損する事で海馬機能不全を呈し、記憶力障害、抑うつ様行動変化等の精神症状を呈し、IL-18を補うことで一部の改善を認めた事を報告した。抑うつやストレスが関わる精神疾患に対するIL-18の治療標的の可能性を探る目的で行い、治療満足度の低いうつ病に新たな治療法につながる可能性を示唆した。

研究成果の概要(英文)：IL-18-deficient (Il18<sup>-/-</sup>) male mice were generated and Il18<sup>+/+</sup> mice were used as controls. Compared with Il18<sup>+/+</sup> mice, Il18<sup>-/-</sup> mice had impaired learning and memory and exhibited lower motivation. In the Il18<sup>-/-</sup> mice, degenerated mitochondria were detected in synaptic terminals in the molecular layer, the polymorphic layer, and in mossy fibers in the dentate gyrus, suggesting mitochondrial abnormalities. Because of the degeneration of mitochondria, in which pro-apoptotic molecules were upregulated and anti-apoptotic factors were decreased, apoptosis inducers were not cleaved, indicating inhibition of apoptosis. In addition, neurogenesis in the dentate gyrus and the maturity of neuronal cells were decreased in the Il18<sup>-/-</sup> mice, while intracerebral administration of recombinant IL-18 promoted significant recovery of neurogenesis. Our findings suggested that IL-18 was indispensable for mitochondrial homeostasis, normal neuronal maturation and hippocampal function.

研究分野：うつ病

キーワード：インターロイキン18 IL-18 depression mitochondria hippocampus neurogenesis learning and memory

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

### (1) 4大疾患とうつ病(精神疾患)の背景

精神疾患は近年増加傾向にあり、平成25年には厚生労働省より癌、糖尿病、脳卒中、急性心筋梗塞の4大疾患に追加され5大疾患に指定されるなど対応が迫られている(厚生労働省発表)。平成26年度の気分障害患者総数は111万人に到達し、他の4大疾患と同等の人数となっている(患者調査)。

またうつ病においては、精神症状そのものだけではなく、他の4大疾患を含む様々な内科疾患との関連が言われている。例えば癌とうつ病の併存は多く(Strong V et al. 2007)、肥満、糖尿病や脂質異常症患者がうつ病を発症するリスクとなったり、逆にうつ病が糖尿病などのリスクにもなるとの報告もある(Marazziti D, 2013. Rotella F, 2013. McIntyre RS, 2007. Chien IC, 2013, Wahlqvist ML, 2012.)。さらに生活習慣病による心筋梗塞後もうつ病を発症するリスクが有意に上昇するとの報告もある(Schroeder V, 2007)。以上より我々は、うつ病と身体恒常性との関連に注目し、研究を続けている。我々は既に、うつ病と脂質異常や炎症・免疫反応などの身体恒常性の関連性を、動物モデルを用いて検討した(Yamanishi K. 2015)。

### (2) インターロイキン 18(IL-18)は免疫だけでなく、生活習慣病や精神疾患と深い関連がある

炎症性サイトカインである IL-18 の欠損マウスを用いて炎症と生活習慣病との関連を明らかにし、免疫異常下において肝臓におけるエネルギー代謝異常やミトコンドリア異常の関与を報告している。さらに組み換え IL-18 を投与することで、IL-18 欠損マウスで見られた脂質異常症、脂肪肝、脂肪肝の予防・治療に成功しただけでなく、野生型マウスの体重増加を抑制する知見まで発表した(Yamanishi K. 2016)。

## 2. 研究の目的

この様な背景から、免疫異常下において、糖・脂質代謝異常だけでなく、精神症状の異常を呈するという仮説の下、同 IL-18 欠損マウスを用いて研究を継続して行っている。IL-18 欠損下において海馬の障害を認め、抑うつ様行動を呈することを発見した(未公開)が、その機序はいまだ不明瞭である。この様な背景から、本研究は、IL-18 が身体、精神面の恒常性に関連している機序の多角的解明を経て、うつ病だけでなく、合併する生活習慣病の予防・治療にも、IL-18 の応用できる可能性の模索を目的とする。

## 3. 研究の方法

野生型、及び、IL-18 欠損マウスを用いて、行動学的解析を用いた表面的妥当性 行動的変化のメカニズム、病態解析などの構成概念妥当性 組み換え IL-18 の投与による変化などの予測妥当性の3つの妥当性を主体に解析を行う。まず、表面的妥当性においては、IL-18 欠損下における行動学的変化をより詳細に解析する。記憶・学習能力、抑うつ症状(不安、動機付け、自発性)、活動性、衝動性などを評価する。構成概念妥当性では 行動学的解析から示された症状が起こるメカニズムを解析する。本研究では、まず海馬機能に焦点をあてて検証する。の治療予後妥当性については、組み換え IL-18 を IL-18 欠損マウスの脳室内へ投与することで得られた知見がどのように改善効果が得られるのかといった事を解析する。加えて、野生型にも同量を脳室内に加える事も同時に行い、正作用/副作用まで検討を行う。

なお、本研究は動物実験が主体であるが、本研究で行う動物実験はすべて National Institutes of Health より公開されている「Guide for Care and Use of Laboratory Animals」を元に作成し、兵庫医科大学動物実験委員会の承認を受けた上で行った。(承認番号:#28041、#13-062、#16-013)

## 4. 研究成果

本研究成果は以下の文献、引用文献に掲載されている。図は文献より一部引用している。

Kyosuke Yamanishi, Nobutaka Doe, Keiichiro Mukai, Kaoru Ikubo, Takuya Hashimoto, Noriko Uwa, Miho Sumida, Yosif El-Darawish, Naomi Gamachi, Wen Li, Sachi Kuwahara-Otani, Seishi Maeda, Yuko Watanabe, Tetsu Hayakawa, Hiromichi Yamanishi, Tomohiro Matsuyama, Hideshi Yagi, Haruki Okamura, and Hisato Matsunaga, Interleukin-18-deficient mice develop hippocampal abnormalities related to possible depressive-like behaviors, *Neuroscience*,;408:147-160. 2019 Jun 1.

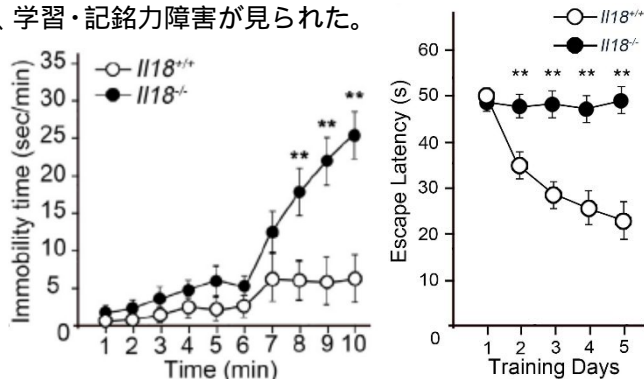
Kyosuke Yamanishi, Takuya Hashimoto, Masahiro Miyauchi, Keiichiro Mukai, Kaoru Ikubo, Noriko Uwa, Yuko Watanabe, Takashi Ikawa, Daisuke Okuzaki, Haruki Okamura, Hiromichi Yamanishi and Hisato Matsunaga, Analysis of genes linked to depressive-like behaviors in interleukin - 18 - deficient mice: Gene expression profiles in the brain, *Biomedical Reports*,;12(1):3-10. 2020 Jan.

IL-18 欠損マウスは抑うつ様行動変化、学習・記憶力障害が見られた。

Water Maze 行動試験(右図 1)より IL-18 欠損マウスは学習・記憶力障害が見られた。

また、オープンスペーススイミング試験(右図 1)にて自発的な水泳が抑制された。

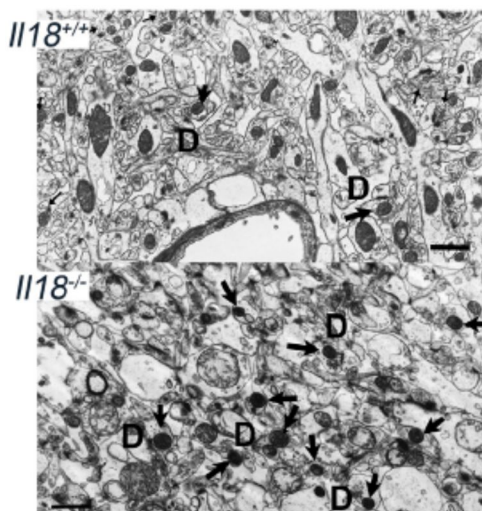
以上より IL-18 欠損マウスは抑うつ様行動変化、学習・記憶力障害が見られた。



【図1】左：オープンスペース水泳試験 右：Water Maze 試験

海馬の歯状回の神経細胞のミトコンドリアの変性が見られた

上記行動実験の結果よりメカニズムの解析を行ったところ、海馬の歯状回の神経細胞に変性が確認され、上記行動の変化を引き起こしたメカニズムの一つと考えられた。



【図2】海馬の電子顕微鏡

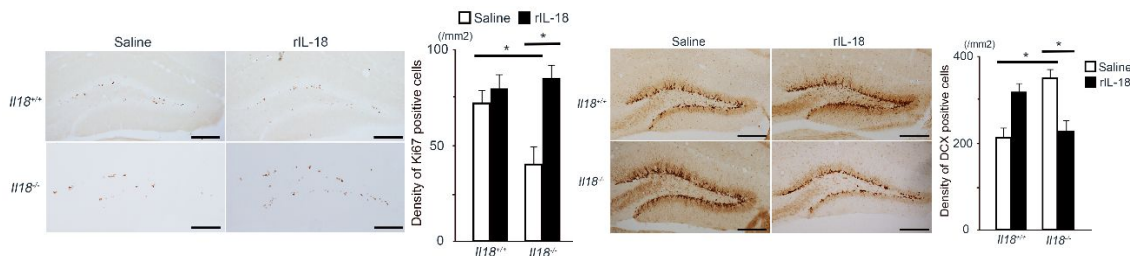
海馬の神経細胞の正常な死が阻害されている。形態的な解析により、ミトコンドリアの変性が確認された。ミトコンドリアの変性が見られ、神経細胞のエネルギー代謝が障害を受けていると考えられたため、エネルギーが不足した時は細胞死が誘導されるはずである。細胞死について検討を行った。細胞死を抑制する遺伝子である BCL2、BCL-XL の発現が低下しており、細胞死(アポトーシス)を誘導する APAF1 の発現も上昇していたが、アポトーシスは誘導されていない。

海馬において、神経再生が抑制された。

抑うつ様行動変化の機序解明に向けて、うつ病患者において神経再生が抑制されているとの過去の報告から、同様の検討を行った。その結果、海馬において神経再生が抑制されたことが明らかとなった。具体的には海馬において中枢神経細胞の発達が障害を受け、正常な成熟した中枢神経細胞が減少していた。

組み換え IL-18 投与で部分的な改善が確認された。(図 3)

IL-18 が欠損している状態で上記神経再生が抑制されている事が明らかとなったが、組み換え IL-18 を脳室内に投与する事で治療可能かどうかを検証した。その結果、未分化マーカーである Ki67 陽性細胞数、未成熟神経細胞マーカーである Doublecortin 陽性細胞数の改善が確認された。しかしながら、成熟神経細胞である calbindin 陽性細胞数に変化は見られなかった。



【図3】左；Ki67 陽性細胞数の比較 右；Doublecortin 陽性細胞数の比較

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yamanishi Kyosuke, Doe Nobutaka, Mukai Keiichiro, Ikubo Kaoru, Hashimoto Takuya, Uwa Noriko, Sumida Miho, El-Darawish Yosif, Gamachi Naomi, Li Wen, Kuwahara-Otani Sachi, Maeda Seishi, Watanabe Yuko, Hayakawa Tetsu, Yamanishi Hiromichi, Matsuyama Tomohiro, Yagi Hideshi, Okamura Haruki, Matsunaga Hisato	4. 巻 408
2. 論文標題 Interleukin-18-deficient mice develop hippocampal abnormalities related to possible depressive-like behaviors	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neuroscience	6. 最初と最後の頁 147 ~ 160
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuroscience.2019.04.003	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 Yamanishi Kyosuke, Hashimoto Takuya, Miyauchi Masahiro, Mukai Keiichiro, Ikubo Kaoru, Uwa Noriko, Watanabe Yuko, Ikawa Takashi, Okuzaki Daisuke, Okamura Haruki, Yamanishi Hiromichi, Matsunaga Hisato	4. 巻 12(1)
2. 論文標題 Analysis of genes linked to depressive-like behaviors in interleukin-18-deficient mice: Gene expression profiles in the brain	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biomedical Reports	6. 最初と最後の頁 3-10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/br.2019.1259	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 -

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 0件／うち国際学会 6件）

1. 発表者名 Takashi Ikawa, Kyosuke Yamanishi, Keiichiro Mukai, Takuya Hashimoto, Masahiro Miyauchi, Kaoru Ikubo, Noriko Uwa, Yuko Watanabe, Chiaki Yamanishi, Haruki Okamura, Hisato Matsunaga
2. 発表標題 Molecular analysis causing depressive-like behaviors in interleukin-18-deficient mice: Gene expression profiles in the brain.
3. 学会等名 24th International Symposium on Molecular Medicine (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kyosuke Yamanishi, Keiichiro Mukai, Takuya Hashimoto, Masahiro Miyauchi, Kaoru Ikubo, Noriko Uwa, Yuko Watanabe, Chiaki Yamanishi, Haruki Okamura, Hisato Matsunaga
2. 発表標題 Epigenetic analysis of depression-like behavior in interleukin-18-deficient mice.
3. 学会等名 24th International Symposium on Molecular Medicine (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kyosuke Yamanishi, Takuya Hashimoto, Kaoru Ikubo, Keiichiro Mukai, Noriko Uwa, Wen Li, Yuko Watanabe, Hiromichi Yamanishi, Haruki Okamura, and Hisato Matsunaga
2. 発表標題 Neurogenesis and histone acetylation are associated with hippocampal abnormalities and depression-like behavioral changes in interleukin-18-deficient mice
3. 学会等名 14th World Congress of Biological Psychiatry (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山西 恭輔、土江 伸誉、橋本 卓也、井窪 薫、向井 馨一郎、李文、渡辺 優子、宇和 典子、山西 博道、岡村 春樹、松永 寿人
2. 発表標題 IL-18 の欠損状態がうつ病など精神症状発現に及ぼす影響について～神経再生とEpigeneticsな視点から～
3. 学会等名 第115回日本精神神経学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山西恭輔、土江伸誉、橋本卓也、井窪薫、澄田美保、大谷(桑原)佐知、前田誠司、李文、渡辺優子、宇和典子、早川徹、山西博道、岡村春樹、松永寿人
2. 発表標題 インターロイキン18 (IL-18) の欠損状態がうつ病など精神症状発現に及ぼす影響について～免疫と精神のクロストーク～
3. 学会等名 第114回日本精神神経学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kyosuke Yamanishi, Nobutaka Doe, Keiichiro Mukai, Kaoru Ikubo, Takuya Hashimoto, Noriko Uwa, Miho Sumida, Haruki Okamura, and Hisato Matsunaga
2. 発表標題 An investigation regarding the causal effect of interleukin-18-deficient condition on hippocampal abnormalities and depression-like behavioral changes
3. 学会等名 WFSBP 2018 KOBE (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kyosuke Yamanishi, Nobutaka Doe, Kaoru Ikubo, Miho Sumida, Sachi Kuwahara-Otani, Seishi Maeda, Yuko Watanabe, Momoko Yoshida, Wen Li, Tetsu Hayakawa, Haruki Okamura, Hiromichi Yamanishi, Hisato Matsunaga
2. 発表標題 Histone acetylation and neurogenesis are associated with hippocampal abnormalities in interleukin-18-deficient mice.
3. 学会等名 22nd International Symposium on Molecular Medicine (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kyosuke Yamanishi, Nobutaka Doe, Kaoru Ikubo, Miho Sumida, Sachi Kuwahara-Otani, Seishi Maeda, Yuko Watanabe, Momoko Yoshida, Wen Li, Tetsu Hayakawa, Haruki Okamura, Hiromichi Yamanishi, Hisato Matsunaga
2. 発表標題 Interleukin-18-deficient mice develop dysfunction of hippocampus resulting in depression-like behavior
3. 学会等名 WPA XVII World Congress of Psychiatry (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 山西恭輔、松永寿人、土江伸誉、橋本卓也、井窪薫、澄田美保、大谷(桑原)佐知、前田誠司、李文、渡辺優子、宇和典子、早川徹、山西博道、岡村春樹
2. 発表標題 IL18 の欠損状態がうつ病など精神症状発現に及ぼす影響について～IL18 欠損 マウスを用いた多角的検討～
3. 学会等名 第113回日本精神神経学会学術総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 山西恭輔、松永寿人、土江伸誉、橋本卓也、井窪薫、澄田美保、大谷(桑原)佐知、前田誠司、李文、渡辺優子、宇和典子、早川徹、山西博道、岡村春樹
2. 発表標題 IL18 の欠損状態がうつ病など精神症状発現に及ぼす影響について～IL18 欠損 マウスを用いた多角的検討～
3. 学会等名 医療心理懇話会 第2回
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

2017年 第113回日本神経学会学術総会にて優秀発表賞を受賞  
2018年 第114回日本神経学会学術総会にて2年連続で優秀発表賞を受賞

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
研究協力者	岡村 春樹  (Okamura Haruki)  (60111043)	兵庫医科大学・精神神経免疫学講座・特別招聘教授    (34519)	
研究協力者	土江 伸誉  (Doe Nobutaka)  (00434879)	兵庫医療大学・共通教育センター・講師    (34533)	