

令和 2 年 6 月 11 日現在

機関番号：15501

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K15517

研究課題名（和文）産後うつ病の発症脆弱性に関わる脳内分子神経基盤の解明

研究課題名（英文）Elucidation of the vulnerability of postpartum depression

研究代表者

樋口 尚子（HIGUCHI, Naoko）

山口大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：00711269

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：産後うつ病の病態は不明な点が多く、産後うつ病の病態を忠実に再現する動物モデル開発も十分行われていない。本研究では、肉体的なストレスはかけず、情動的なストレス(Emotional Stress)を加えるという方法を用い、出産後の雌マウスにストレス負荷を行ったところ、出産後マウスのうつ様行動の増加が観察された。このことから、産後うつ病のモデルとして、情動的なストレス負荷が有用であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

既存のうつ病モデル動物は主に身体的ストレスの曝露に依存しており、うつ様行動解析の際に痛みや炎症の影響が排除できないことが課題であった。そこで、肉体的なストレスはかけず、情動的なストレス(Emotional Stress)を加えるという方法を用いてストレス負荷を行ったところ、出産後マウスのうつ様行動の増加が観察された。このことから、産後うつ病のモデルとして、情動的なストレス負荷が有用であることが示唆された。産後うつ病のモデルはほとんど知られておらず、今後産後うつ病の病態解明に有用だと考えられた。

研究成果の概要（英文）：The pathology of postpartum depression remains unclear. Animal models of postpartum depression has not been developed. In the present study, we loaded emotional stress, not physical stress, and observed an increase in depression-like behavior in the postpartum mice. This suggests that emotional stress load may be useful as a model for postpartum depression.

研究分野：周産期うつ病

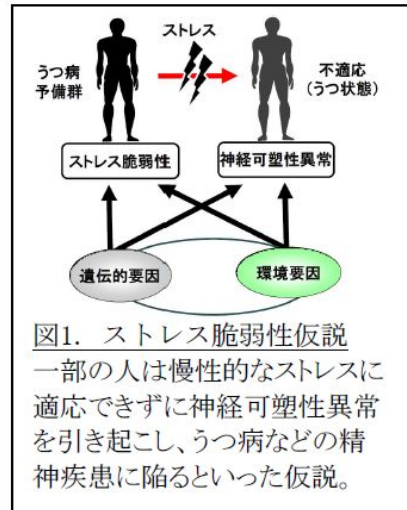
キーワード：産後うつ病 周産期 うつ病モデルマウス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

本邦における産後うつ病の発症頻度は 10-20%と高く、患者本人のみならず子の心身の発達に対する長期的な影響が危惧されており、その発症機序の解明ならびに治療法の確立は急務となっている。また、産後うつ病は双極性障害のリスクファクターであることが知られており、産後うつ病の分子基盤を研究することは、うつ病と双極性障害の分子基盤の相違を推測するためにも重要な研究であると考えられる。

うつ病発症メカニズムの一つに、ストレス脆弱性を基盤に誘因となるストレスが作用することで発症が促されるといふ“ストレス脆弱性仮説”が提唱されている(Krishnan and Nestler, Nature 2008) (図1)。しかし、従来の齧歯類を使用したうつ病モデルは、慢性的に身体的なストレスを与えるなど、妊娠動物に使用できるものではなかったため、産後うつ病のモデルは世界的にもほとんどなく、発症に至る脆弱性についての分子基盤研究も殆ど行われていない。このため研究代表者は、雄マウスを用いて、社会的敗北ストレスをパートナーが受けるところを見せたり、その際の鳴き声を聞かせたりするといった情動ストレスプロトコルを構築し、新規のうつ病モデル動物を作成することに成功している。この情動ストレスは妊娠マウスにも負荷が可能であり、産後うつ病モデルマウスの構築が可能だと考えられる。本研究では、「産後うつ病の分子神経基盤は何か？」との問いに対して、遺伝・環境要因と神経可塑性の観点からその解明に挑み、革新的治療法の確立への展開を目指す。



2. 研究の目的

産後うつ病は患者本人のみならず子の心身の発達に対する影響も大きいいため、その病態解明は喫緊の課題となっているものの、産後うつ病の分子基盤研究は圧倒的に不足しているのが現状である。本研究の第一の目的は、産後うつ病発症の分子機序を明らかにすることである。具体的には、“周産期のストレス負荷が神経可塑性異常を引き起こし、産後うつ病の発症に至る”との仮説を、分子生物学的・形態学的・薬理遺伝学的・行動学的手法を用いて検討する。得られた成果は、将来的にはヒト死後脳解析や遺伝子解析へと発展させることで、産後うつ病の基礎・臨床の統合研究への展開ならびに産後うつ病の革新的治療法の開発が期待できる。

3. 研究の方法

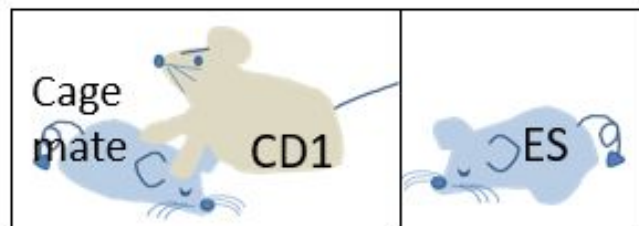
(1)情動的ストレス負荷

24±2°C に管理された部屋で、12時間毎の明暗サイクル下で飼育した。すべての実験は、山口大学の動物実験ガイドライン (the Guidelines for Animal Care and Use of Yamaguchi University Graduate School of Medicine) を遵守して行った。

ストレス脆弱性を有する BALB / c 雄マウスを用いて、情動的ストレス

(Emotional Stress) 群、対照 (Control) 群の 2 群に分け、情動的ストレス群はケージメイトマウスが CD1 マウスに 1 日 5 分間攻撃を受けている状況に共存させ (図2)、ストレス後 24 時間別の CD1 マウスと区画を分け同ケージ内で飼育した。これを 7 日間連続で行った。対照群はストレスをうけずに飼育した。

図 2



(2)行動解析

ストレス実験後 Forced Swim Test、Social Interaction Test および Open Field Test でうつ様行動を評価した。

(3)定量的逆転写リアルタイム PCR

非ストレス群、ストレス負荷群の 2 群に分け、各マウスの脳から海馬を単離し、脳組織から TRIzol 試薬を用いて全 RNA を抽出し、DNase で処理した。RNA の量と品質は、NanoDrop™ND-1000 分光光度計 (Thermo Fisher Scientific) を使用して計測し、OD 260/280 比は、すべての精製 RNA で 1.5 以上であった。HDAC1-11 の発現量をリアルタイム PCR で測定し、GAPDH の発現量で、各ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) の相対発現レベルを標準化した。使用したプライマーのリストを表 1 に示す。

表 1

	Forward	Reverse
Hdac1	TGTGTCCTTTTCATAAATACGG	TCTCGCAGTGGGTAGTTC
Hdac2	GGGACAGGCTTGTTGTTTC	GAGCATCAGCAATGGCAAGT
Hdac3	AGAGAGGTCCCGAGGAGAAC	ACTCTTGGGGACACAGCATC
Hdac4	CAATCCCACAGTCTCCGTGT	CAGCACCCCACTAAGTTCA
Hdac5	TGTCACCGCCAGATGTTTTG	TGAGCAGAGCCGAGACACAG
Hdac6	TCCTCAGCTGTGTTGACCTG	TGTCCTCCCAAACCTTGTTTC
Hdac7	GGTGGACCCCTTTTCAGAAG	TGGGTAGCCAGGAGTCTGGA
Hdac8	AGCCATCAACTGGTCTGGAG	CCAGGACAGCATCATTGAGA
Hdac9	GCGAGACACAGATGCTCAGAC	TGGGTTTTCTTCCATTGCT
Hdac10	CCACTCCAGAGGAGATCCAG	GCGACTGGCAATCACTGTTA
Hdac11	TCATGGGTGACAAGCGAGTA	CTCATCTTCTGTGCCCCACT
Gapdh	TGCACCACCAACTGCTTAG	GGATGCAGGGATGATGTTTC

(4)統計解析

SPSS 16.0 をデータ分析に使用し、独立サンプル t 検定を行った。

4 . 研究成果

まずは情動的ストレスモデルの実験系を確立させるため、まずはオスマウスを用いた実験を行った。情動的ストレス負荷群 (ES : n = 12) とコントロール群 (n = 14) を比較したところ、Forced Swim Test では情動的ストレス負荷群はコントロール群に比べて有意に無動時間が長かった (図 3 * p < 0.05)。

次に Social Interaction Test を行ったところ、やはり情動的ストレス負荷群の方がコントロール群に比べて Interaction Ratio が短かった (図 4 * p < 0.05)。

さらに、Open Field Test でも情動的ストレス負荷群の方がコントロール群に比べて Center Time が短かった (図 5 * p < 0.05)。

以上の結果から、情動的ストレス負荷によって、うつ様行動が増加することがわかった。

次にヒトうつ病のバイオマーカー研究で報告のあるヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) の発現変化を調べたところ、情動的ストレス群で control 群と比較して、いくつかの HDAC に有意な発現変化がみられた (図 6)。これらの発現変化がうつ様行動とどのように関係しているかは不明であるが、エピジェネティクスを介した海馬の神経可塑性メカニズムについて解析が必要ながことが示唆された。

次に、雌マウスを用いて、同様の情動的ストレス負荷を行った。情動的ストレス負荷群では Control 群と比較してうつ様行動を示した。さらに、出産後の雌マウスでも情動的ストレス負荷群では Control 群と比較してうつ様行動を示した (投稿準備中のため、data not shown)。

以上の結果から、情動的ストレスは産後うつ病モデルマウス作成に有用であることが示唆された。

図 3

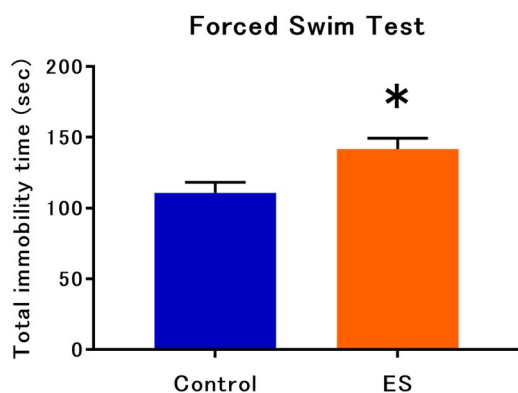
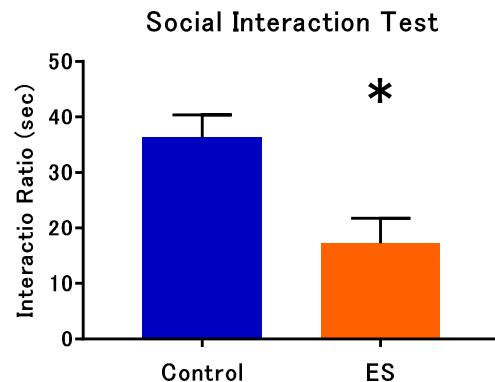
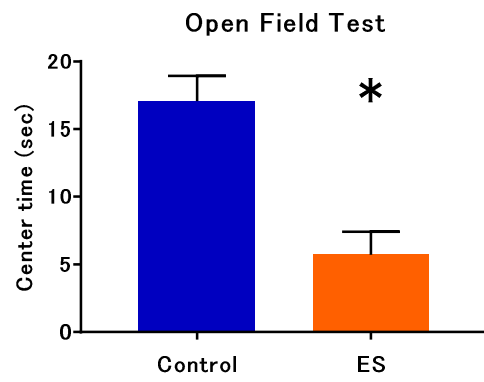


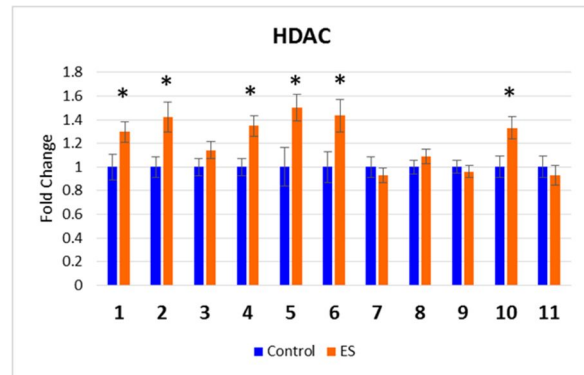
図 4



☒ 5



☒ 6



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 關友恵, 山形弘隆, 内田周作, 小林正明, 古林亜由美, 陳 冲, 樋口尚子, 渡邊義文, 中川 伸
2. 発表標題 情動的ストレスを用いたうつ病モデルマウスの作成
3. 学会等名 第41回日本生物学的精神医学会
4. 発表年 2019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
--	---------------------------	-----------------------	----