

平成 21 年 6 月 11 日現在

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2007～2008

課題番号：19390019

研究課題名 (和文) うつ病および糖尿病における海馬機能低下のメカニズム解析

研究課題名 (英文) Analysis of malfunction of the hippocampus in depression and diabetes.

研究代表者

松木 則夫 (MATSUKI NORIO)

東京大学・大学院薬学系研究科・教授

研究者番号：70126168

研究成果の概要：

海馬は記憶・学習に重要な役割を果たしていることはよく知られているが、海馬内回路に比べて海馬外からの調節機構解明は進んでいなかった。本研究において、後部扁桃体基底核および青斑核の活性化がそれぞれ海馬内のシャッフアー側枝 - CA1 野錐体細胞、嗅内皮質 - CA3 野錐体細胞のシナプス伝達にダイナミックに影響することを示した。また、前者はストレスに対する感受性が高いことも明らかになり、うつ病との関連が示唆される。また、末梢刺激により海馬機能が影響され、それが糖尿病でも低下していることを明らかにした。さらに、新しいうつ病モデル動物としてコルヒチン投与動物を解析した。残念ながらうつ病モデル動物とはならない結果であったが、逆に、抗うつ薬の作用機序として歯状回顆粒細胞の新生や生存は関係ないことが示された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	6,600,000	1,980,000	8,580,000
2008年度	2,600,000	780,000	3,380,000
年度			
年度			
年度			
総計	9,200,000	2,760,000	11,960,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・生物系薬学

キーワード：海馬、扁桃体、青斑核、シナプス可塑性、ストレス、カンナビノイド受容体

1. 研究開始当初の背景

海馬は記憶・学習に重要な役割を果たしており、摘出した海馬におけるシナプス可塑性に関する研究は非常に数多く行われているが、そのほとんどが細胞レベル、分子レベルでの解析である。これらの研究成果として百数十種類の遺伝子・タンパク質がシナプス可塑性に必須であることが明らかになってきた。しかし、個々のシナプスレベルでの知見

と海馬機能を結びつける研究がほとんどなされていないため、結局のところ海馬がどのようにして記憶・学習を調節しているかは未解明である。海馬体には歯状回 CA3 野 CA1 野と巡る三つのシナプスがあるが大半の研究は CA1 野に限局されており、各シナプスの海馬機能発現における存在意義は不明である。また、海馬は脳内のさまざまな部位と相互に神経投射をしているが、摘出した標本で

はこれらの影響を解析することはできない。歯状回の顆粒細胞は成熟したあとも、脳神経細胞の中では例外的に分裂・増殖を続ける。最近、抗うつ薬がこの部位での細胞新生を促進することが明らかになったが、海馬機能との関連や抗うつ作用との関連は解明されていない。さらには、個体動物を用いた学習試験もパラッキを小さくすることを主眼に、スコア化が容易な課題の獲得が偏重して解析されている。ヒトの認知症では海馬機能がかなり低下した段階に相当すると思われる。つまり、分子レベルでの知見を海馬レベル、個体レベルに結びつけることが課題として残されている。それには、単に実験のスケールアップだけではなく、包括的な解析も必要となる。

2. 研究の目的

本研究では *in vivo* の電気生理学的手法と個体動物の行動解析を主体に、(1)ミクロの解像度を保ちながらマクロに海馬機能を解析する。(2)認知症に近い学習課題の遂行を解析する。新規記憶の獲得障害は進行した認知症で認められ、海馬機能の劇的な低下と関連する。しかし、認知症は徐々に進行する疾患であり、治療効果は初期段階で期待されるので、それに即した解析方法の確立が必要である。一度獲得した記憶は想起時に不安定になり、その後再固定されていく。再固定に関する研究はほとんど行われていないが、海馬の僅かな機能低下で影響されると考えられる。従って、記憶の再固定を課題にすることにより、臨床に即した結果が得られることが期待される。(3)うつ病および糖尿病における海馬機能低下のメカニズムを探り、治療薬開発に繋げる。両疾病とも患者数がどんどん増加しており、経済学的にも、克服すべき課題である。さらに、うつ病や糖尿病は認知症の原因疾患の一つであるが、その機構については全く研究されていない。中枢と末梢に守備範囲を分けてしまう研究者が多く、末梢を介した中枢神経系の調節については、可能性すら考えられていない。しかし、臨床上のデータとして、うつ病および生活習慣病の患者に、認知障害が多いことは広く認められている。従って、本研究はうつ病や糖尿病時に海馬で起こる機能変化を察知し、治療薬開発の手掛かりを得ることを目的とする。

3. 研究の方法

(1). 扁桃体基底外側核(BLA)刺激による海馬シナプス可塑性調節

ストレス状態では知情意の慢性的な抑制がかかり、海馬の機能も低下する。情動を介した反応には扁桃体が重要であり、恐怖条件付けの成立に必須な部位である。扁桃体の出力は中心核と考えられているが、我々は基底

外側核(BLA)こそが扁桃体を介した海馬機能制御に重要な部位であることを見出し、報告している(業績 17,21)。最近の予備的な試験で、BLA から腹側海馬への直接投射を見出すことに成功した。間接投射と同じように、時空間的に海馬のシナプス可塑性を調節しているかどうか検討する。歯状回、CA1、CA3に分けて検討する。BLA 海馬の直接投射による海馬シナプスのヘテロシナプス可塑性調節が明らかになったら、コルヒチン投与動物でも検討を行う。さらに、動物にストレスを加え、ヘテロシナプス調節機構との関係を解析する。特に、カンナビノイド、グルココルチコイド受容体の関与について、アゴニストとアンタゴニストを用いて詳細に検討する。

(2). 新しいうつ病モデル動物の作成

理由は未解明であるがコルヒチンを投与すると他の神経系にはほとんど影響せずに、歯状回顆粒細胞を選択的に脱落させることが出来る。もし、歯状回の hilus 部分に存在する幹細胞様細胞から顆粒細胞が新生されることがうつ状態を防ぐために重要であるならば、コルヒチン投与により簡便にうつ病モデル動物が作成できることが期待される。コルヒチンの投与場所、投与量、投与後の時間などについて検討を加える。

また、行動解析には他の研究との摺り合わせのために強制水泳も行うが、よりマイルドなうつ状態を反映すると思われる TST(Tail Suspension Test)、NSF(Novelty Suppressed Feeding Test)やビー玉隠しを指標に行う。特に、NSF は新規環境下での食欲抑制を見ており、抗うつ薬の短期投与は効果がなく、長期投与により初めて抑制されるので、より臨床病態に近いと考えられる。

コルヒチン投与動物が新しいモデル動物として確立できた場合には、青斑核および扁桃体刺激による海馬シナプス可塑性変化について解析を行う。

4. 研究成果

(1). 扁桃体 - 腹側海馬直接投射の解析

直接投射があることが示唆されている後部扁桃体基底核(BA)から腹側海馬 CA1 野錐体細胞への投射、および海馬内回路としてよく知られているシャッフアー側枝(SC) - CA1 野錐体細胞シナプス間の相互作用を検討した。まず、神経マーカーを用いて、直接投射が腹側海馬に局在していることを確認した。そして、BA-CA1、SC-CA1 それぞれのシナプスを先行刺激すると他方のシナプス伝達を抑制することが分かった。この抑制は先行刺激の強度とタイミングに依存しており、薬理的な解析により、GABA_B 受容体とカンナビノイド CB1 受容体が関与することが明らかになった。BA 先行刺激による SC - CA1

経路の抑制は、予め動物に拘束ストレスを与えておくことにより増強されたが、SC 先行刺激による BA - CA1 はストレスに全く影響されなかった。また、BA 刺激と SC 刺激を組み合わせると、SC - CA1 のシナプス可塑性が強く抑制された。これらの結果は、腹側海馬のシナプス伝達が扁桃体の活動によってダイナミックに変動し、情動が記憶に影響することをシナプスレベルで示したと考えられる。また、BA - CA1 経路のみストレスに大きく影響されたことから、うつ病などの慢性ストレスとの関連が示唆された。

(2) 青斑核 - 海馬相互作用の解析

青斑核(LC)は脳内ノルアドレナリン神経の起始核として知られ、海馬へも広範な投射がある。LC の活性化による海馬シナプス伝達の調節について解析した。LC を安定して刺激するためにグルタミン酸を微量注入する方法を確立した。LC 活性化により、貫通線維 - CA3 野シナプス伝達が増強された。この増強はアドレナリン または 受容体拮抗薬により抑制されたが、抑制は部分的であった。また、CA3 野に6-ヒドロキシドパミンを投与しておく、LC 刺激による増強が完全に抑制された。従って、LC からのアドレナリン作動性神経投射が、シナプス伝達を増強していると考えられた。海馬スライス標本を用いた実験では、ノルアドレナリンの適用は海馬神経伝達を抑制することが知られている。つまり、シナプスの内と外でのアドレナリン受容体活性化はシナプス伝達に対して逆に作用することを示した。今後はストレスによる影響の解析を行っていく必要がある。

求心性迷走神経を刺激することで、統合失調症、うつ病、てんかんなどが改善することが知られ、米国では既に医療器具として認可されている。海馬機能に影響していると思われるが、それを示した動物実験のデータは知られていない。求心性迷走神経は孤束核に投射しているが、孤束核から青斑核へ投射があることが知られており、求心性迷走神経刺激が青斑核を介して、海馬シナプス伝達に影響する可能性を調べた。その結果、嗅内皮質 - CA3 野経路が青斑核刺激と同様に上昇することを明らかにした。末梢からの入力、海馬のシナプス伝達に影響することを示した初めての研究である。さらに、この機能が糖尿病動物では低下していた。糖尿病患者がうつ病の発症率が高いことと関連している可能性がある。

(3) 新しいうつ病モデル動物の開発

最近、抗うつ薬の作用機序として歯状回顆粒細胞の新生への効果が示唆されている。しかし、歯状回の機能とうつ様症状との関係は不明である。コルヒチンは歯状回顆粒細胞を選択的に脱落させることが知られているの

で、コルヒチン投与動物についてうつ様行動(強制水泳試験と NSF: Novelty Suppressed Feeding Test)との関係を解析した。歯状回顆粒細胞の選択的脱落させた動物では、抗うつ薬の短期作用に若干影響があったが、長期作用は全く影響されなかった。抗うつ薬の長期投与を行っても、歯状回顆粒細胞の神経新生や生存も影響されなかった。従って、コルヒチン投与動物はうつ病のモデル動物とはならないと考えられた。しかし、抗うつ薬の作用機序として、歯状回機能への影響は関与しないことが示された。

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 19 件)

1. Akashiba, H., Y. Ikegaya, N. Nishiyama and N. Matsuki. Differential Involvement of Cell Cycle Reactivation between Striatal and Cortical Neurons in Cell Death Induced by 3-Nitropropionic Acid. *J. Biol. Chem.*, 283: 6594-6606, 2008. 査読有
2. Usami, A., Sasaki, T., Satoh, N., Akiba, T., Yokoshima, S., Fukuyama, T., Yamatsugu, K., Kanai, M., Shibasaki, M., Matsuki, N., and Ikegaya, Y. Osetamivir enhances hippocampal network synchronization. *J. Pharmacol. Sci.*, 106: 649-662, 2008. 査読有
3. Nomura, H. and N. Matsuki. Ethanol enhances reactivated fear memories. *Neuropsychopharmacol.*, 33: 2912-2921, 2008. (advance online publication, February 20, 2008) 査読有
4. Yamada, R. X., T. Sasaki, J. Ichikawa, R. Koyama, N. Matsuki and Y. Ikegaya. Long-range axonal calcium sweep induces axon retraction. *J. Neurosci.*, 28: 4613-4618, 2008. 査読有
5. Usami, A., Matsuki, N. and Ikegaya, Y. Spontaneous plasticity of multineuronal activity patterns in activated hippocampal networks. *Neural Plast.* 108969, 2008. 査読有
6. Kimura, R. and N. Matsuki. Protein Kinase CK2 Modulates Synaptic NMDA Receptors and Synaptic Plasticity in the Hippocampus. *J. Physiol.*, 586: 3195-3206, 2008. 査読有
7. Muramatsu, R., Y. Ikegaya, N. Matsuki and R. Koyama. Early-life status epilepticus induces ectopic granule cells in adult mice dentate gyrus. *Exp. Neurol.*, 211: 503-510, 2008. 査読有
8. Sasaki, T., N. Takahashi, N. Matsuki and Y. Ikegaya. Fast and accurate detection of action potentials from somatic calcium fluctuations. *J. Neurophysiol.*, 100: 1668-1676, 2008. 査読有
9. Sasaki, T., N. Matsuki and Y. Ikegaya. Metastability of active CA3 networks. *J.*

- Neurosci., 27: 517-528, 2007. 査読有
10. Yanagimoto, T., T. Toyoda, N. Matsuki, Y. Makino, S. Uchiyama and T. Ohwada. Transnitrosation of thiols from aliphatic N-nitrosamines: S-Nitrosation and indirect generation of nitric oxide. *J. Am. Chem. Soc.*, 129: 736-737, 2007. 査読有
 11. Sato, K., T. Akashi, N. Matsuki, Y. Ohno and K. Nakazawa. β -Estradiol induces synaptogenesis in the hippocampus by enhancing brain-derived neurotrophic factor release from dentate gyrus granule cells. *Brain Res.* 1150, 108-120, 2007. 査読有
 12. Hama, K., J. Aoki, A. Inoue, T. Endo, T. Amano, R. Motoki, M. Kanai, X. Ye, J. Chun, N. Matsuki, H. Suzuki, M. Shibasaki and H. Arai. Embryo spacing and implantation timing are differentially regulated by LPA3-mediated lysophosphatidic acid signaling in mice. *Biol. Reproduction.* 77: 954-959, 2007. 査読有
 13. Koyama, R., Muramatsu, R., Sasaki, T., Kimura, R., Ueyama, C., Tamura, M., Tamura, N., Ichikawa, J., Takahashi, N., Usami, A., Yamada, M.K., Matsuki, N., Ikegaya, Y. A low-cost method for brain slice cultures. *J. Pharmacol. Sci.*, 104:191-194, 2007. 査読有
 14. Ichikawa J., Yamada R.X., Muramatsu R., Ikegaya, Y., Matsuki, N. and Koyama, R. Cryopreservation of granule cells from postnatal rat hippocampus. *J. Pharmacol. Sci.*, 104:387-391, 2007. 査読有
 15. Muramatsu R., Ikegaya, Y., N. Matsuki, N. and Koyama, R. Neonatally born granule cells numerically dominate adult mice dentate gyrus. *Neuroscience*, 148:593-598, 2007. 査読有
 16. Tsukamoto-Yasui, M., Sasaki, T., Matsumoto, W., Hasegawa, A., Toyoda, T., Usami, A., Kubota, Y., Ochiai, T., Hori T., Matsuki, N. and Ikegaya, Y. Active hippocampal networks undergo spontaneous synaptic modification. *PLoS One*, 2(11):e1250, 2007. 査読有
 17. Takahashi N, Sasaki T, Usami A, Matsuki N, Ikegaya Y. Watching neuronal circuit dynamics through functional multineuron calcium imaging (fMCI). *Neurosci Res.* 58:219-225, 2007. 査読有
 18. Chen J, Kitanishi T, Ikeda T, Matsuki N, Yamada MK. Contextual learning induces an increase in the number of hippocampal CA1 neurons expressing high levels of BDNF. *Neurobiol Learn Mem.* 88:409-15, 2007. 査読有
 19. Ueyama C, Akashiba H, Nakayama K, Nakayama KI, Nishiyama N, Matsuki N. Ablation of p27 enhance kainate-induced seizure and hippocampal degeneration. *Neuroreport* 18:1781-1785, 2007. 査読有

[学会発表](計36件)

1. 小山隆太、乳幼児期における海馬神経回路の形成機構の解明 - 難治性てんかんの新たな治療戦略、第 82 回日本薬理学会、2009 年 3 月 18 日、パシフィコ横浜
2. Hiroshi Nomura, Representation of fear memory in lateral amygdala, Society for Neuroscience 2008、2008 年 11 月 19 日、Washington, D.C.
3. Naoya Takahashi、Coherent synaptic inputs between synchronized neuron pairs., Society for Neuroscience 2008、2008 年 11 月 19 日、Washington, D.C.
4. Atsushi Usami、Evoked neuronal activity patterns are linked to spontaneously generated network activity., Society for Neuroscience 2008、2008 年 11 月 19 日、Washington, D.C.
5. Takuma Kitanishi、Acute and coordinated spine reorganization in behaviorally activated neurons., Society for Neuroscience 2008、2008 年 11 月 19 日、Washington, D.C.
6. Junya Ichikawa、GABA-induced KCC2 regulates the development of primary dendrites from dentate granule cells., Society for Neuroscience 2008、2008 年 11 月 18 日、Washington, D.C.
7. Soichiro Nakahara、Neuronal hyperactivity regulates the persistence of basal dendrites from dentate granule cells: time-lapse confocal analysis using organotypic slice cultures., Society for Neuroscience 2008、2008 年 11 月 18 日、Washington, D.C.
8. Takeshi Toyoda、The relationship between Arc/Arg3.1 expression and neuronal activities, Society for Neuroscience 2008、2008 年 11 月 17 日、Washington, D.C.
9. 久我奈穂子、脳深部位における血管イメージング、第 31 回日本神経科学大会、2008 年 7 月 10 日、東京国際フォーラム
10. 木村梨絵、海馬多シナプス回路における情報演算の短期的および長期的可塑性、第 31 回日本神経科学大会、2008 年 7 月 9 日、東京国際フォーラム
11. 北西卓磨、経験依存的に活動した神経細胞におけるスパインの可塑性、第 31 回日本神経科学大会、2008 年 7 月 9 日、東京国際フォーラム
12. 佐々木拓哉、嗅内皮質-海馬 CA1 ペアから単シナプス結合をパッチクランプ記録する、第 31 回日本神経科学大会、2008 年 7 月 9 日、東京国際フォーラム
13. 小山隆太、GABA による海馬顆粒細胞の移

- 動異常、第 31 回日本神経科学大会、2008 年 7 月 9 日、東京国際フォーラム
14. 中原聡一郎、海馬苔状線維における神経活動依存的なミトコンドリアの分布、第 31 回日本神経科学大会、2008 年 7 月 9 日、東京国際フォーラム
 15. 村松里衣子、Netrin-1 による神経活動依存的な海馬苔状線維の軸索誘導、第 31 回日本神経科学大会、2008 年 7 月 9 日、東京国際フォーラム
 16. 田村誠、歯状回顆粒細胞成熟における胎生期ストレスの影響、第 31 回日本神経科学大会、2008 年 7 月 9 日、東京国際フォーラム
 17. 松木則夫、扁桃体および青斑核活動による海馬シナプス可塑性の調節、第 85 回日本生理学会年会、2008 年 3 月 26 日、京王プラザホテル(東京)
 18. 熊倉かれん、ASK1 ノックアウトマウスの行動的特徴、第 81 回日本薬理学会年会、2008 年 3 月 19 日、パシフィコ横浜
 19. 佐々木拓哉、経済的な脳スライス培養法、第 81 回日本薬理学会年会、2008 年 3 月 19 日、パシフィコ横浜
 20. 野村洋、扁桃体における恐怖記憶の表現、第 81 回日本薬理学会年会、2008 年 3 月 19 日、パシフィコ横浜
 21. 北西卓磨、海馬における経験依存的なシナプス構造の可塑性、第 81 回日本薬理学会年会、2008 年 3 月 19 日、パシフィコ横浜
 22. 豊田雄、Arc/Arg3.1 の発現と神経細胞の活動の関係、第 81 回日本薬理学会年会、2008 年 3 月 19 日、パシフィコ横浜
 23. 松山皓治、後部扁桃体基底核 - 腹側海馬 CA1 経路と海馬 Schaffer 側枝 - CA1 経路間のシナプスの相互調節、第 81 回日本薬理学会年会、2008 年 3 月 18 日、パシフィコ横浜
 24. 村松里衣子、海馬苔状線維の Netrin-1 依存性誘引の細胞内 cAMP 量による制御、第 81 回日本薬理学会年会、2008 年 3 月 18 日、パシフィコ横浜
 25. 中原聡一郎、軸索分枝形成におけるミトコンドリアの局在解析、第 81 回日本薬理学会年会、2008 年 3 月 18 日、パシフィコ横浜
 26. 宇佐美篤、オセルタミビルは海馬回路に同期発火を惹起する、第 81 回日本薬理学会年会、2008 年 3 月 18 日、パシフィコ横浜
 27. 高橋直矢、神経ネットワーク活動のイメージング：次世代の薬理スクリーニング系を目指して、第 81 回日本薬理学会年会、2008 年 3 月 18 日、パシフィコ横浜
 28. 木村梨絵、海馬多シナプス応答のイメージング：次世代の薬理スクリーニングを

- 目指して、第 81 回日本薬理学会年会、2008 年 3 月 18 日、パシフィコ横浜
29. 長谷川彩子、アストロサイトのカルシウム動態の大規模なイメージング、第 81 回日本薬理学会年会、2008 年 3 月 18 日、パシフィコ横浜
 30. 松本涉、覚醒下マウスにおけるパッチクランプ記録、第 81 回日本薬理学会年会、2008 年 3 月 18 日、パシフィコ横浜
 31. 赤芝洋紀、スプライシング機構をターゲットとした脊髄小脳変性症 6 型の治療戦略の確立、第 81 回日本薬理学会年会、2008 年 3 月 18 日、パシフィコ横浜
 32. 池谷裕二、細胞体による軸索伸長の遠隔制御、Neuro2007、2007 年 9 月 11 日、パシフィコ横浜
 33. Norio Matsuki、Modulation of hippocampal synaptic plasticities by the activities of the amygdala.、Neuro2007、2007 年 9 月 10 日、パシフィコ横浜
 34. 長谷川彩子、アストロサイトのセルアセンブリ、Neuro2007、2007 年 9 月 10 日、パシフィコ横浜
 35. 市川淳也、GABA、グルタミン酸による海馬新生顆粒細胞の分化、Neuro2007、2007 年 9 月 10 日、パシフィコ横浜
 36. 村松里衣子、ネトリン-1 による海馬苔状線維の順行性投射機構の維持、Neuro2007、2007 年 9 月 10 日、パシフィコ横浜

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松木 則夫 (MATSUKI NORIO)
 東京大学・大学院薬学系研究科・教授
 研究者番号：70126168

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし