

令和 4 年 5 月 11 日現在

機関番号：35302

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06531

研究課題名（和文）タンパク質ミスフォールディングに注目したうつ病発症メカニズムの解明

研究課題名（英文）Elucidation of the mechanism of depression development focusing on protein misfolding.

研究代表者

橋川 直也（Hashikawa, Naoya）

岡山理科大学・理学部・准教授

研究者番号：60434982

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）：タンパク質のミスフォールディングが原因でうつ病が発症することを明らかにするため、マウスに社会敗北ストレスを与え、脳海馬において凝集するタンパク質の探索を行った。その結果、ストレスを与えたマウスの海馬においてアミロイドが増加することが明らかとなった。社会敗北ストレス負荷マウスにおいて、タンパク質のフォールディングに関わる熱ショックタンパク質を発現誘導し解析したところ、アミロイド量、およびうつ様行動が抑制された。以上のことから、うつ様行動の原因の一つとしてアミロイドの増加の可能性が明らかとなり、タンパク質のフォールディングを正常化させることで、うつ様行動を抑制でき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

うつ病発症の原因となる新たなタンパク質の探索を行なった。その結果、ストレスを与えたマウスにおいてアミロイドが増加し、アミロイドの増加を抑制することでマウスのうつ様行動が減少することを明らかにした。今回の研究結果は、うつ病発症の原因の一つとしてアミロイド増加の可能性を明らかにし、今後のさらなる研究によりアミロイドをターゲットとした新たなうつ病治療薬の開発が期待される。

研究成果の概要（英文）：To clarify that depression is caused by protein misfolding, mice were exposed to 4 weeks of social defeat stress to search for proteins that aggregate in the brain hippocampus. The results showed that amyloid- increased in the hippocampus of stressed mice. Induction of heat shock protein expression, which is involved in protein folding, in mice subjected to social defeat stress suppressed amyloid- levels and depression-like behavior. The results of this study revealed the possibility of increased amyloid- as one of the causes of depressive-like behavior, and suggested that normalization of protein folding can suppress depressive-like behavior.

研究分野：精神神経科学

キーワード：うつ病 社会敗北ストレス マウス うつ様行動 熱ショックタンパク質 アミロイド

1. 研究開始当初の背景

うつ病は、モノアミンが不足することで起こるとする「モノアミン仮説」が一般的に広く受け入れられ浸透しているが、うつ病の約 3 割は既存の治療薬が効果を示さない治療抵抗性うつ病とされている。また、うつ病と関係が深い事象である自殺死亡率は、抗うつ薬開発前(1965-1995年)と開発後(2009-2012年)において変化していないことが報告されている(米国国立精神保健所, 2014)。通常、良い薬・治療法が見つければ、死亡率は減少するはずであり、開発された抗うつ薬の効果は自殺という事象にほとんど影響を与えていない可能性がある。

以上のことから、うつ病発症にはモノアミン仮説と別の異なるメカニズムが存在する可能性が考えられる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、「タンパク質ミスフォールディングを軸として、新たなうつ病発症の原因を解明すること」である。申請者の以前の研究により、タンパク質のフォールディング機能を持つ HSP がうつ様症状と関係することが明らかとなったことから、うつ様症状とタンパク質のミスフォールディングが関係する可能性が考えられる。うつ病モデルマウスにおいてタンパク質のミスフォールディングを検出することができれば、うつ病発症の新たなメカニズム解明につながるのではないかと考えられる。

3. 研究の方法

タンパク質はフォールディング異常を起こすと凝集する。タンパク質が凝集するとアミロイド線維と呼ばれる構造を取ることが知られている。うつ病モデルマウスの脳において、アミロイド線維を検出することができれば、タンパク質がミスフォールディングを起こしている証拠になると考えられる。アミロイド形成のステップとしては、下図のように考えられる。

タンパク質のダメージ ➡ クロスβ構造 ➡ フォールディング異常 ➡ 凝集 ➡ アミロイド形成

本研究では、凝集を起こす前段階であるクロスβ構造の変化を赤外顕微鏡、低波数顕微ラマン、可視を用いて解析した。また、アミロイド解析によく使用される Congo Red や Direct fast scarlet (DFS) 近年開発された 1-Fluoro-2,5-bis(3-carboxy-4-hydroxystyryl) benzene (FSB) などによる組織染色により、微量なアミロイド、もしくはアミロイド形成前のタンパク質凝集の検出を試みた。

4. 研究成果

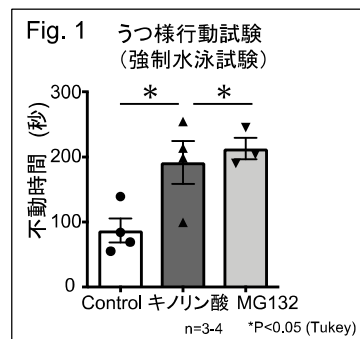
うつ病でタンパク質のミスフォールディングが起こっていることを証明するため、社会敗北ストレスを 4 週間与えたうつ病モデルマウスを作成し、タンパク質の二次構造解析を行った。しかし、赤外顕微鏡、低波数顕微ラマン等で明確な差が認められなかった。生物試料は水を多く含むためノイズが多く発生する。その為今回の実験では、変化していたとしてもわずかであるタンパク質の二次構造の差を捉えることはできなかったと考えられる。現在、水分子の信号を回避するフィルター等を模索し、今後の実験につなげられるように改良中である。

また、うつ病モデルマウスの脳を薄切し、アミロイドなどのタンパク質凝集を染色する FSB 染色、チオフラビン T 染色を行った。しかし、コントロールと比較して明瞭な差が認められなかった。そこで、社会敗北ストレスの期間を 8 週間、14 週間と長くし、脳の染色を行ったが、変化は認められなかった。また、ストレスに弱いとされる BALB/C 系のマウスを使用してうつ病モデルマウスを作成し、染色してみたが、同様に差が認められなかった。

以上の結果から、うつ病モデルマウスの脳において、タンパク質凝集染色では変化が認められないことが明らかとなった。しかし、FSB 染色、チオフラビン T 染色といった染色には測定限界があり、わずかな凝集を検出することができていない可能性がある。その為、うつ病がタンパク質のミスフォールディングにより発症するという仮説をこの結果より否定することはできない。

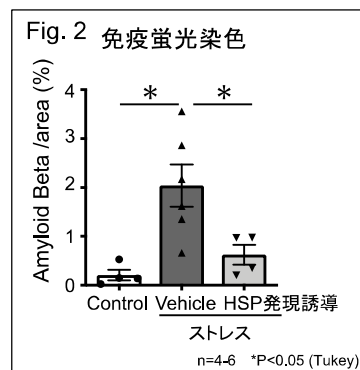
うつ病モデルマウスにおいてタンパク質凝集染色の変化が見られなかったため、次にタンパク質ミスフォールディングを起こすことが、うつ様行動を誘発するかについての検討を行った。フォールディング異常を引き起こすことが示唆されているキノリン酸やプロテオソームインヒビター (MG132) をマウス脳室内に投与し、うつ様行動に影響を与えるか試験を行った。

その結果、キノリン酸および MG132 をマウスの脳内に投与することにより、うつ様行動が増加していた (Fig. 1)。キノリン酸と MG132 はそれぞれミスフォールディングを起こす機序が異なる。キノリン酸はアルツハイマー病の原因タンパク質であるアミロイド β を凝集させることが知られており、MG132 はミスフォールディングを起こしたタンパク質の分解を阻害することで、様々なタンパク質の凝集が増加することが知られている。Fig. 1 の結果は、タンパク質の凝集増加がうつ様行動を惹起することを示しており、我々が提唱した「うつ病ミスフォールディング説」を支持していると示唆される。



キノリン酸投与によりうつ様行動を引き起こした結果から、うつ様行動にアミロイド β が関与している可能性がある。そこで、社会敗北ストレスを与えたうつ病モデルマウスの脳においてアミロイド β の染色を行った結果、アミロイド β 陽性反応が認められた。

以前我々はフォールディングを修復することが知られている熱ショックタンパク質 (HSP) を増加させることによりうつ様症状を改善することを報告している。そこで、うつ病モデルマウスに HSP 発現誘導剤を与えて、脳の海馬においてアミロイド β 発現に与える影響について免疫蛍光染色により解析した。その結果、HSP 発現誘導により、アミロイド β の発現は抑制されていた (Fig. 2)。



疫学的研究により、うつ病患者はアルツハイマー病発症リスクが高いことが知られている。しかしながら、なぜそのような現象が起こるのかは明らかとなっていない。本研究結果は、この現象がアミロイド β のミスフォールディングという共通の物質により引き起こされている可能性を示唆している。

本申請研究により、うつ病発症の原因の一つとしてアミロイド β 増加の可能性のあることを明らかにした。今後、アミロイド β をターゲットとした抗体薬をうつ病モデルマウスに投与し、うつ様行動への影響を解析することで、うつ病とアミロイド β の関係をさらに明らかにする予定である。

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 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Hashikawa-Hobara Narumi, Yoneyama Yoshikazu, Fujiwara Kyoushiro, Hashikawa Naoya	4. 巻 12
2. 論文標題 Intranasal calcitonin gene-related peptide administration impairs fear memory retention in mice through the PKD/p-HDAC5/Npas4 pathway	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	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） 10.1038/s41598-022-05518-y	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 Hashikawa-Hobara Narumi, Otsuka Ami, Okujima Chihiro, Hashikawa Naoya	4. 巻 9
2. 論文標題 CGRP overexpression does not alter depression-like behavior in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PeerJ	6. 最初と最後の頁 e11720 ~ e11720
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.7717/peerj.11720	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 Hashikawa Naoya, Ido Masanobu, Morita Yuna, Hashikawa-Hobara Narumi	4. 巻 11
2. 論文標題 Effects from the induction of heat shock proteins in a murine model due to progression of aortic atherosclerosis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	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） 10.1038/s41598-021-86601-8	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 Hashikawa-Hobara Narumi, Mishima Shuta, Okujima Chihiro, Shitanishi Youdai, Hashikawa Naoya	4. 巻 11
2. 論文標題 Npas4 impairs fear memory via phosphorylated HDAC5 induced by CGRP administration in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	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） 10.1038/s41598-021-86556-w	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 Hashikawa Hobara Narumi, Hashikawa Naoya, Sugiman Nao, Hosoo Shingo, Hirata Tetsuya, Yamaguchi Yasuyo, Yamasaki Hiroo, Kawasaki Hiromu, Nishibe Sansei	4. 巻 85
2. 論文標題 Oral administration of Eucommia ulmoides Oliv. leaves extract protects against atherosclerosis by improving macrophage function in ApoE knockout mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Food Science	6. 最初と最後の頁 4018 ~ 4024
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1750-3841.15461	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 Hashikawa-Hobara Narumi, Otsuka Ami, Ishikawa Risa, Hashikawa Naoya	4. 巻 118
2. 論文標題 Roman chamomile inhalation combined with clomipramine treatment improves treatment-resistant depression-like behavior in mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biomedicine & Pharmacotherapy	6. 最初と最後の頁 109263 ~ 109263
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.biopha.2019.109263	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2件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 足立陸 野田拓弥 中谷柊斗 日浦あみ 橋川成美 橋川直也
2. 発表標題 熱ショックタンパク質発現誘導剤のうつ病治療薬としての可能性の検討
3. 学会等名 第15回臨床検査協議会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 野田拓弥、足立陸、中谷柊斗、石原亜夕未 宗海ナミ、橋川成美、橋川直也
2. 発表標題 脳をターゲットとした抗体薬投与のための高分子物質脳内移行の解析
3. 学会等名 第15回臨床検査協議会学術大会
4. 発表年 2021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
研究 分担者	桜井 博 (Sakurai Hiroshi) (00225848)	金沢大学・保健学系・教授 (13301)	

	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	橋川 成美 (Hashikawa Narumi) (30511159)	岡山理科大学・理学部・准教授 (35302)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------