

令和 5 年 6 月 20 日現在

機関番号：33404

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19K08030

研究課題名（和文）酸化ストレスを介した統合失調症と双極性障害の連続性に関する基礎的研究

研究課題名（英文）Basic research about the consecutiveness of schizophrenia and bipolar disorder through oxidative stress

研究代表者

小俣 直人（Omata, Naoto）

福井医療大学・保健医療学部・教授

研究者番号：30334832

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：ラットに社会的孤立（Social Isolation, SI）を負荷した。SI開始3、8および12週間後に、オープンフィールド試験に引き続いてY字迷路試験を施行した。オープンフィールド試験では、不安関連行動は飼育期間が長期化するにつれて増加する傾向を示し、SI開始3週間後と比べて12週間後では有意に増加していた。また運動量はコントロール群と比べて、SI開始8週間後においてのみ有意に増加していた。一方Y字迷路試験では、飼育期間が長期化しても短期記憶に有意な変化はなかった。以上より、持続的なSIにより経時的な不安の増加と一過性の運動量増加が認められたが、短期記憶には変化は認められなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

あるストレスが持続的に負荷された場合、統合失調症や双極性障害に関連すると考えられる行動変化は、持続的に顕在化するものもあれば一過性に出現するものもあることが示された。従って統合失調症や双極性障害は、共通する病態を有しつつ後者から前者へと移行していく可能性があることが示唆された。本研究により、いわゆる内因性精神疾患の新たな病態仮説が示されたことから、今後の新たな創薬に繋がっていく可能性もある。また、以前より精神病理学的な立場からは、精神疾患は一つの基本障害の増悪に伴って連続的に諸段階を呈すると説明される単一精神病論が論じられている。本研究は、この立場の生物学的な基盤を示したとも考えられる。

研究成果の概要（英文）：Social isolation (SI) was loaded to rats. Open filed test (OFT) followed by Y-maze test (YMT) were tried after the loading of SI for 3, 8, and 12 weeks, respectively. In the OFT, anxiety-related behavior was increased along to the extension of the duration of SI, and anxiety-related behavior after SI for 12 weeks was significantly increased than that after SI for 3 weeks. Furthermore, distance traveled was increased only after SI for 8 weeks compared to that of control. On the other hand, short-term memory in the YMT was not significantly changed after SI. From these results, serial increase of anxiety-related behavior and temporary increases of distance traveled was observed after SI, but short-term memory was not significantly changed.

研究分野：神経生理学

キーワード：統合失調症 双極性障害 社会的孤立 酸化ストレス 病態生理

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 最近の研究から、特に発達段階における亜鉛不足 (Zinc Deficiency, ZD) や社会的孤立 (Social Isolation, SI) などの劣悪な生育環境が、統合失調症や双極性障害の発症と関連することが報告されている^{1, 2, 3}。我々の研究グループによる実験動物を使った先行研究では、ZD や SI を単独で負荷するとうつ様状態を呈するが、ZD と SI を同時に負荷したり、SI の負荷期間を延長したりすると、うつ様状態が増悪するのではなく、かえって減弱して躁様状態とも考えられる行動変化を呈することを明らかとしてきた^{4, 5}。また、他の研究グループからは、我々が負荷した以上に長期の SI により、統合失調症様行動が観察されたことも報告されている⁶。従って、ZD や SI によるストレスの増大に伴い、うつ様状態から躁様状態を経て統合失調症様状態に至る可能性が考えられる。

(2) 統合失調症や双極性障害の発症機序として、酸化ストレスの関与が指摘されている。酸化ストレスは、これまで主に血中や尿中の酸化ストレスマーカーの変化から評価されてきた。一方で、統合失調症や双極性障害では脳の様々な部位における機能変化の関与が示唆されており、その病態を解明するためには酸化ストレスを脳の各部位で比較することも重要である。

2. 研究の目的

本研究では、長期間にわたる劣悪な生育環境が双極性障害や統合失調症に関連すると考えられる行動に与える影響を、実験動物を用いて観察した。また、これらの行動変化の背景にあると考えられる酸化ストレスの脳の各部位での評価を、血液サンプルを用いた評価と併せて行った。

3. 研究の方法

(1) 長期間の SI が様々な行動に与える影響

SI の負荷

3 週齢のラットを搬入し、グループ飼育(通常飼育、コントロール群)または個別飼育(SI 群)を開始した。

行動解析

飼育開始 3 週間後、8 週間後、および 12 週間後に、オープンフィールド試験に引き続いて Y 字迷路試験を施行した。

オープンフィールド試験: 不安関連行動および運動量を評価した。W1000 × D1000 × H450 mm のケージ内でラットを 30 分間自由に行動させ、ビデオでラットの動きを記録した。不安関連行動は、装置中央部への滞在時間の減少を指標とした。運動量は、総移動距離を測定した。

Y 字型迷路試験: 作業記憶(短期記憶)を評価した。3 本のアームから構成された Y 字型の装置を用いて、手前、左奥、右奥のアームへの進入回数をそれぞれ記録した。3 回連続で違うアームに入った割合を作業記憶の指標とした。

(2) ZD による酸化ストレス

ZD の負荷

3 週齢のラットを搬入して 1 週間通常飼育した後、更に 2 週間通常飼育する群(コントロール群)と、普通食から亜鉛欠乏食に切り替えて更に 2 週間飼育する群(ZD 群)を設定した。

酸化ストレスの評価

酸化ストレスを、脳の各部位において、および血液サンプルを用いて評価した。

脳の各部位における酸化ストレスの評価: 生体の酸化ストレスを画像化する [⁶⁴Cu]-diacetyl-bis(N4-methylthiosemicarbazone)(⁶⁴Cu-ATSM)⁷ をオートラジオグラフィ法に適用し、実験動物の脳組織における亜鉛欠乏時の酸化ストレスを評価した。飼育終了後に ⁶⁴Cu-ATSM を静脈投与してから脳組織を取り出し、オートラジオグラフィを施行してその集積を前頭葉皮質、線条体、海馬および視床で比較した。

血液サンプルを用いた酸化ストレスの評価: 飼育終了後に血液サンプルを採取して、酸化ストレスマーカーである 8-isoprostane (リン脂質由来) および 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG, DNA 由来) の濃度を測定した。

4. 研究成果

(1) 長期間の SI が様々な行動に与える影響

オープンフィールド試験では、不安関連行動は飼育期間が長期化するにつれて増加する傾向を示し、SI 開始 3 週間後と比べて 12 週間後では有意に増加していた(図 1a、未発表 data)。また運動量はコントロール群と比べて、SI 開始 8 週間後においてのみ有意に増加していた(図 1b、未発表 data)。一方 Y 字迷路試験では、飼育期間が長期化しても短期記憶に有意な変化は

認められなかった (図 2、未発表 data)。

以上より、持続的な SI により経時的な不安の増加と一過性の運動量増加が認められた。SI 開始 8 週間後にのみ運動量が増加したことは、我々の先行研究で SI 開始後の同時期に躁様状態が観察されたことと矛盾しない。一方、SI が長期化しても短期記憶には変化は認められなかった。認知機能の中でも、SI の影響をより強く受けるのは長期記憶なのかもしれない。

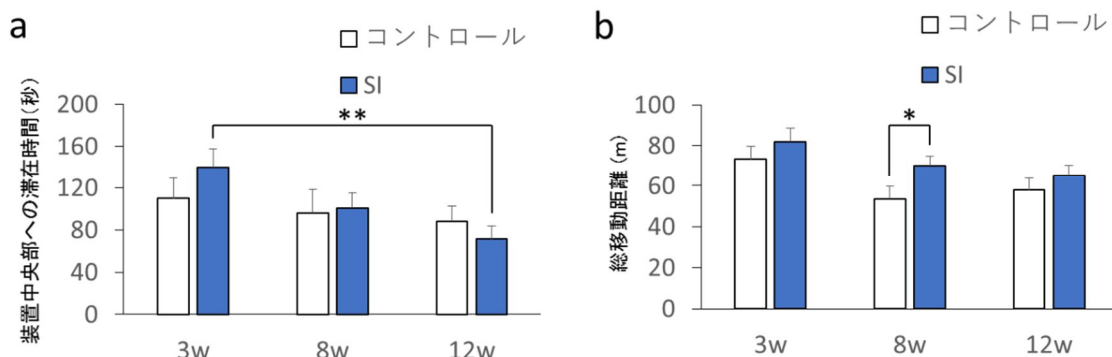


図 1 オープンフィールド試験
*p < 0.05, **p < 0.01

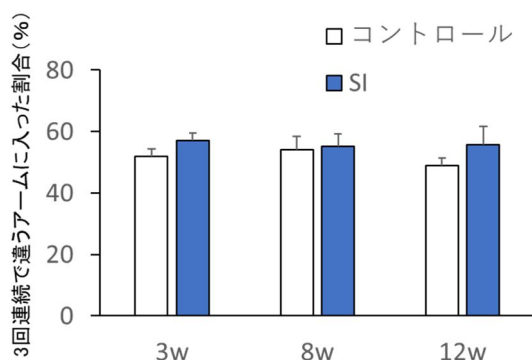


図 2 Y 字迷路試験

(2) ZD による酸化ストレス

脳の各部位における酸化ストレスの評価では、 ^{64}Cu -ATSM の集積は比較したいずれの脳部位においても、ZD 群とコントロール群との間に有意な差は認められなかった (図 3)。一方、血液サンプルを用いた酸化ストレスの評価では、コントロール群と比べて ZD 群では 8-isoprostane は有意に上昇していたのに対し (図 4)、8-OHdG は逆に低下傾向を示した (表 1)。

ZD 群においては、抗酸化酵素の一つである Zn-superoxide dismutase (SOD) (主に細胞質に存在) の発現・活性が低下し、細胞膜のリン脂質由来である 8-isoprostane が上昇した可能性がある。これに対して Mn-SOD (主にミトコンドリアに存在) などの抗酸化酵素の発現・活性は代償的に亢進したため、8-OHdG は低下したのかもしれない。一方これまでの研究では、2 週間の ZD 負荷により血中亜鉛濃度は著しく低下するものの、脳組織内亜鉛量には変化は生じなかったことが報告されている⁸。従って本研究においては、2 週間の ZD 負荷では、 ^{64}Cu -ATSM の集積変化を来すまでに至らなかった可能性が考えられる。

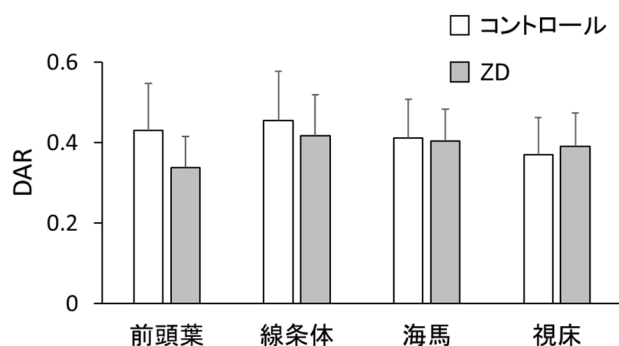


図 3 各脳部位における ^{64}Cu -ATSM の集積
DAR: Differential Absorption Ratio (全身と比較した局所の放射線分布量)

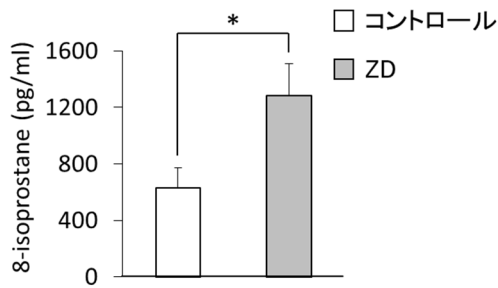


図 4 血中 8-isoprostane 濃度

*p < 0.05

| コントロール | ZD |
|-------------|-------------|
| 0.13(ng/ml) | 0.21(ng/ml) |
| 0.15 | n.d |
| 0.14 | n.d |
| 0.19 | n.d |
| 0.19 | n.d |
| 0.19 | n.d |
| 0.23 | n.d |
| n.d | n.d |
| n.d | n.d |
| n.d | n.d |

表 1 血中 8-OHdG 濃度

定量限界 : 0.12 ng/ml

参考文献

1. Meyer U. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2013 Apr 5;42:20-34. doi: 10.1016/j.pnpbp.2011.11.003.
2. Tahmasebi K et al. Biol Trace Elem Res. 2017 Aug;178(2):180-188. doi: 10.1007/s12011-016-0917-7.
3. Parellada M et al. Schizophr Bull. 2017 Oct 21;43(6):1176-1189. doi: 10.1093/schbul/sbx126.
4. Mitsuya H et al. Behav Brain Res. 2015 May 1;284:125-30. doi: 10.1016/j.bbr.2015.02.005.
5. Matsumoto H et al. Exp Brain Res. 2021 Aug;239(8):2537-2550. doi: 10.1007/s00221-021-06149-x.
6. Powell SB et al. Dev Neurosci. 2015;37(3):253-62. doi: 10.1159/000430091.
7. Okazawa H et al. Antioxidants (Basel). 2022 May 22;11(5):1022. doi: 10.3390/antiox11051022.
8. Omata N et al. Neurosci Lett. 2012 Nov 30;531(1):10-3. doi: 10.1016/j.neulet.2012.10.013.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 1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 小俣直人 | 4. 巻 6 |
| 2. 論文標題 内因性精神疾患のディメンジョナルな評価と酸化ストレス | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Precision Medicine | 6. 最初と最後の頁 417 ~ 419 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし | 査読の有無 無 |
| 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 Matsumoto Hiyori, Omata Naoto, Kiyono Yasushi, Mizuno Tomoyuki, Mita Kayo, Kosaka Hiroataka | 4. 巻 239 |
| 2. 論文標題 Paradoxical changes in mood-related behaviors on continuous social isolation after weaning | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Experimental Brain Research | 6. 最初と最後の頁 2537 ~ 2550 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00221-021-06149-x | 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 小俣直人、水野智之、小坂浩隆、清野泰 | 4. 巻 4 |
| 2. 論文標題 酸化ストレスイメージングを介した単一精神病論の再考 | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Precision Medicine | 6. 最初と最後の頁 1085 ~ 1087 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし | 査読の有無 無 |
| 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 小俣直人、水野智之、小坂浩隆、清野泰 | 4. 巻 46 |
| 2. 論文標題 単一精神病論と酸化ストレスイメージング | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Medical Science Digest | 6. 最初と最後の頁 360-361 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし | 査読の有無 無 |
| 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 小俣直人、水野智之、小坂浩隆、清野泰 | 4. 巻 22 |
| 2. 論文標題 単一精神病論の復権を目指した酸化ストレスイメージング | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 地域ケアリング | 6. 最初と最後の頁 63-65 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし | 査読の有無 無 |
| 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 - |

〔学会発表〕 計4件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

| |
|---|
| 1. 発表者名 Kiyono Y, Omata N, Matsumoto H, Mizuno T, Mita K, Kosaka H, Okazawa H |
| 2. 発表標題 Analysis of the expression of norepinephrine transporter and neuronal plasticity-related proteins in social isolation model rats |
| 3. 学会等名 Neuroreceptor Mapping (NRM) 2021 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 松本日和、清野泰、水野智之、三田香代、小坂浩隆、小俣直人 |
| 2. 発表標題 社会的孤立の負荷期間延長が恐怖関連行動に与える影響 |
| 3. 学会等名 第40回躁うつ病の薬理・生化学的研究懇話会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 水野智之、小俣直人、松本日和、三田香代、小垣内咲子、清野泰、小坂浩隆 |
| 2. 発表標題 福井大学精神医学講座の「気分障害モデル動物における中枢神経系の神経可塑性および酸化ストレスの定量評価研究」 |
| 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 水野智之、清野泰、松本日和、三田香代、小坂浩隆、小俣直人 |
| 2. 発表標題 亜鉛欠乏ラットにおける64Cu-ATSMを用いた脳内酸化ストレス評価 |
| 3. 学会等名 第38回躁うつ病の薬理・生化学的研究懇話会 |
| 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 |
|-------|--|---|----|
| 研究分担者 | 清野 泰 (Kiyono Yasushi) (50305603) | 福井大学・高エネルギー医学研究センター・教授 (13401) | |

| | 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 | 水野 智之 (Mizuno Tomoyuki) | | |
| 研究協力者 | 松本 日和 (Matsumoto Hiyori) | | |
| 研究協力者 | 西 若奈 (Nishi Wakana) | | |

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 |
|---------|---------|
|---------|---------|