

令和 5 年 8 月 4 日現在

機関番号：34519

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K16680

研究課題名（和文）インターロイキン18を中心とした脳内炎症と精神疾患の病態解明

研究課題名（英文）The investigation between psychiatric disorders and neuroinflammation focused by interleukin 18

研究代表者

山西 恭輔（YAMANISHI, KYOSUKE）

兵庫医科大学・医学部・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）：インターロイキン18(IL18)は炎症性サイトカインであり、うつ病などの精神疾患と関係がある。我々は以前、IL18の欠損が海馬の障害を引き起こし、うつ病様行動変化をもたらす可能性があることを発見した。しかし、ストレス下でのIL18の潜在的な役割は不明なままである。本研究では急性ストレス時のIL18の影響を検討した。IL18欠損マウスは、ストレスに対し敏感な反応を示すことが明らかになった。さらに、ストレスによる神経炎症とグルココルチコイドシグナルの増大が生じた。結論として、IL18はストレス応答を調節し、神経炎症とグルココルチコイドシグナル伝達のバランスを維持する不可欠な因子である可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現代社会において、ハラスメントなど様々なストレスが存在している。このようなストレスは、眼で見てわかるものではなく、評価や原因の評価が困難である。今回の我々の研究は、ストレスに対して免疫機能が重要な役割を果たしており、特に炎症性サイトカインのインターロイキン18がストレスによって生じた脳内炎症のコントロールに重要な役割を果たしていることが明らかになった。目に見えないストレスに対する脳内反応を明らかにすることで、今後インターロイキン18を中心にシグナル経路を解析することで、ストレスに対する心因反応を緩和させるなど治療応用化の可能性につながり、社会還元が可能と思われる。

研究成果の概要（英文）：Interleukin-18 (IL18) is an inflammatory cytokine that is related to psychiatric disorders such as depression and cognitive impairment. We previously found that IL18 deficiency may cause hippocampal impairment, resulting in depression-like behavioral changes. However, the potential role of IL18 in stressful conditions remains uncertain. In the present study, we examined the effect of IL18 on neural inflammation and stress tolerance during acute stress. Our results revealed that IL18-deficient mice were more sensitive and had a longer response to acute stress than that in normal mice. Additionally, neural inflammation and augmentation of glucocorticoid signals caused by stress were more intense and remained longer in IL18^{-/-} mice, resulting in behavioral changes. In conclusion, IL18 might be an indispensable factor that modulates the stress response and maintains balance between neural inflammation and glucocorticoid signaling.

研究分野：精神科神経科学

キーワード：うつ病 精神ストレス 脳内炎症 インターロイキン18 ストレス反応

1. 研究開始当初の背景

人間にとってストレス状態は基本的に普遍的なものであり、しばしば深刻な問題を引き起こし、最終的には休職や退職につながることもある。実際、日常生活においてストレスのかかる状況は数多く存在する。また、極度のストレスは、適応障害やうつ病性障害などの身体的だけでなく、精神疾患を引き起こす可能性があり、そのような患者さんは社会との関わりが失われることもある。したがって、日常生活においてストレスマネジメントは非常に重要である。

免疫系は、ストレスにより引き起こされる精神疾患、特にうつ病性障害(MDD)の発症に深く関与していると言われている。視床下部-下垂体-副腎(HPA) Axis は、グルココルチコイドなどの様々なホルモンを介して免疫バランスを監視し調節している。しかし、ストレスはHPA Axis の過活動を誘発し、継続的なストレスは副腎皮質ホルモンへの抵抗性を増やし、過剰な炎症反応を引き起こすことで MDD 発症の重要な因子と指摘されている。以前のメタ解析では、MDD 患者において tumor necrosis factor-alpha (TNF α)、インターロイキン(IL) 6、IL18 の増加が見られた。さらに、MDD の動物モデルにおいて、海馬では、TNF α 、IL18 のレベルが対照群と比べ増加していた。したがって、これらの直接的な相互作用については明らかにされていないものの、ストレスおよびストレスによって引き起こされる精神症状は、免疫系と密接に関係している可能性がある。

IL18 は、1995 年にインターフェロン- γ を誘導する機能を持つ炎症性サイトカインとして発見された。IL18 は、18kDa の活性型と 24kDa の非活性型・前駆体の 2 つの型が存在する。前駆体の IL18 は、Caspase-1 によって代謝され、活性型に変換され、IL1 とともにインフラソームに重要な役割を担っている。我々は先行研究で、IL18 がエネルギー代謝やうつ病などの精神疾患と関連していることを発見した。神経機能に関しては、IL18 は脳の神経細胞に前駆体として存在し、その欠損により海馬の機能障害やうつ病様の表現型が生じることを報告している。このように、IL18 は免疫系だけでなく、神経機能やうつ病などの精神疾患表現型と密接に関係している。しかし、これまでは IL18 欠損下での海馬の機能評価のみであり、治療法については検討されていない。

2. 研究の目的

上記背景より、本研究は IL18 の脳内炎症への影響、及びストレスに対する反応性、制御機能を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

野生型マウス、IL-18 欠損マウスを使用した In vivo 実験にて行う。先行研究で野生型マウス、IL-18 欠損マウスの基礎データの蓄積は終了しているため、ストレス反応における IL-18 の役割を解析する。ストレスとしては単回の 6 時間の拘束ストレスを負荷し、行動学的な変化、分子生物学/組織学的変化を観察し、組換え IL18 を投与する事で改善の効果の有無まで解析を行う。

1) 行動実験：野生型マウス、IL-18 欠損マウスに急性ストレスを負荷し、抑うつ症状、不安を中心とした行動学的変化を観察する。行動試験としては、オープンフィールド試験、強制水泳試験、尾懸垂試験にて評価を行った。

2) 分子生物学/組織学的変化を観察する。ストレス負荷後に、先行研究で変化が見られた項目、アポトーシス関連、ミトコンドリア関連の項目を Western blotting を用いて、神経再生(neurogenesis)、脳内ミクログリア、アストロサイトに関する項目を免疫染色にて評価する。さらに RNA-Seq を用いて海馬における包括的な遺伝子解析を行った。

3) 組換え IL-18 を投与する事で改善の効果の有無を観察する。投与量、方法は、先行研究(Yamanishi K et al 2019)と同様の方法とする。なお、本動物実験計画は兵庫医科大学動物実験委員会の承認を受けたうえで行った。(承認番号：#28041、#19-030、#20-040)

4. 研究成果

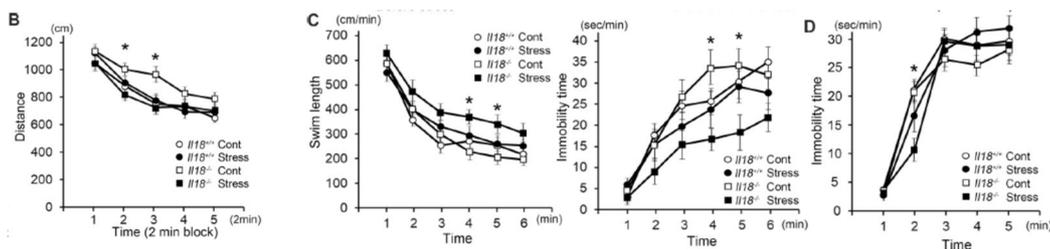
本研究成果は以下の文献に記載されている。図は文献より一部引用している。

Kyosuke Yamanishi, Nobutaka Doe, Keiichiro Mukai, Takuya Hashimoto, Naomi Gamachi, Masaki Hata, Yuko Watanabe, Chiaki Yamanishi, Hideshi Yagi, Haruki Okamura, and Hisato Matsunaga, Acute stress induces severe neural inflammation and overactivation of glucocorticoid signaling in interleukin-18-deficient mice, *Translational Psychiatry*, 2022 Sep 23;12(1):404.

Kyosuke Yamanishi, Masahiro Miyauchi, Keiichiro Mukai, Takuya Hashimoto, Noriko Uwa, Hitomi Seino, Wen Li, Naomi Gamachi, Masaki Hata, Sachi Kuwahara-Otani, Seishi Maeda, Yuko Watanabe, Hiromichi Yamanishi, Hideshi Yagi, Haruki Okamura, and Hisato Matsunaga. Exploring molecular mechanisms involved in development of the depression-like phenotype in interleukin 18-deficient mice, *BioMed Research International*, 2021 Oct 18;2021:9975865.

1. 急性ストレス処置で IL18KO マウスでは活動量の亢進が見られた。

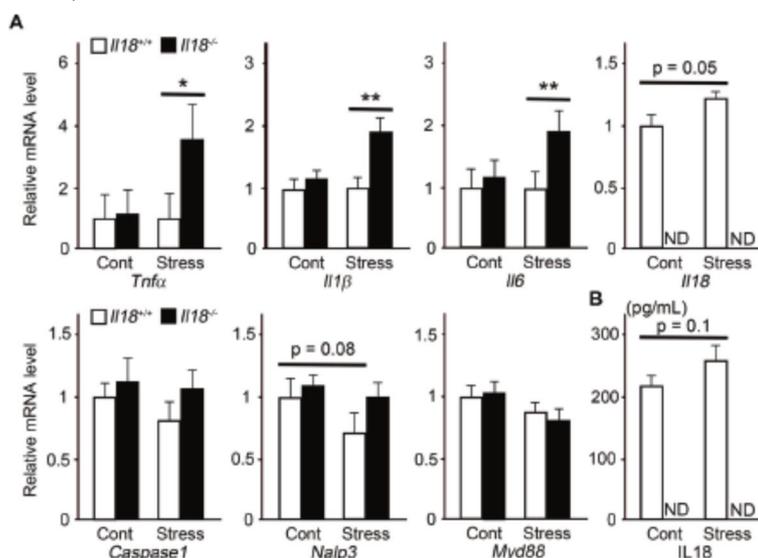
オープンフィールド試験では、野生型マウスでは拘束処置で変化が見られなかったが、IL18KO マウスではストレス処置において活動量の低下が観察された。ただし、IL18KO マウスは無処置で活動量の亢進が見られた(図 1B)。一方で強制水泳試験、尾懸垂試験では野生型マウスではストレス処置で変化が観察されなかったのに対し、IL18KO マウスでは活動量の亢進が見られた。(図 1C、D)(図 1: *p < 0.05)



【図 1】 IL18 欠損マウスは急性ストレス処置で不安様行動が増加する。

2. 海馬において、急性ストレス処置にて IL18KO マウスでは脳内炎症の長期化が確認された。

野生型マウスは急性ストレス処置後 18 時間経過後、脳内炎症は観察されなかった。しかしながら、IL18KO マウスではストレス処置後 18 時間経過後も脳内炎症が残存していた。海馬において、拘束処置を行った IL18KO マウスでは、IL1、IL6、Tnf の発現上昇が見られた(図 2A)。IL18 については野生型において軽度の上昇傾向が観察された(図 2A, 2B)。(図 2: *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001)



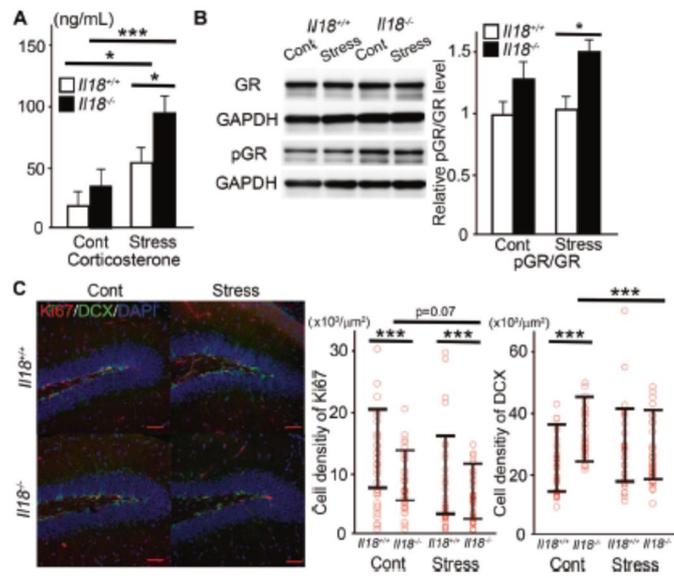
【図 2】 中枢神経において、IL18 欠損マウスは脳内炎症が長期残存する。

3. 急性ストレス処置におけるグルココルチコイド経路と神経再生の評価

急性ストレス処置にて血中コルチコステロンの上昇は野生型、IL18 欠損マウスでも見られたが、IL18 欠損マウスではさらなる上昇を認めた(図 3A)。グルココルチコイド受容体のリン酸化に関しては、IL18 欠損マウスではストレス処置にて有意に上昇を認めた(図 3B)。さらに神経再生では元々 IL18 欠損マウスは野生型マウスと比べ、減少しているが、急性ストレス処理にさらに Ki67 陽性細胞数の減少を認めた(図 3C)。

4. 結論

免疫因子である IL18 が欠損していると急性ストレスにより惹起される脳内炎症が持続し、ストレス反応性の行動異常につながる可能性が示唆された。IL18 が欠損することでストレスにより IL1 などインフラマソームを構成する因子がさらに上昇し、結果として脳内炎症をより持続させる結果となった。本研究からは IL18 がインフラマソームを調整しうる重要な因子であり、結果として脳内炎症の調整につながる可能性が示唆された。ストレスにより惹起される脳内炎症の抑制には IL18 が必要であることやインフラマソームの調整や抑制を含めたさらなる機序解明や治療応用の可能性の模索が必要である。



【図3】急性ストレス処置におけるグルココルチコイドシグナルと神経再生の評価

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 2件）

1. 著者名 Yamanishi Kyosuke, Miyauchi Masahiro, Mukai Keiichiro, Hashimoto Takuya, Uwa Noriko, Seino Hitomi, Li Wen, Gamachi Naomi, Hata Masaki, Kuwahara-Otani Sachi, Maeda Seishi, Watanabe Yuko, Yamanishi Hiromichi, Yagi Hideshi, Okamura Haruki, Matsunaga Hisato	4. 巻 2021
2. 論文標題 Exploring Molecular Mechanisms Involved in the Development of the Depression-Like Phenotype in Interleukin-18-Deficient Mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BioMed Research International	6. 最初と最後の頁 1~11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1155/2021/9975865	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 Yamanishi Kyosuke, Doe Nobutaka, Mukai Keiichiro, Hashimoto Takuya, Gamachi Naomi, Hata Masaki, Watanabe Yuko, Yamanishi Chiaki, Yagi Hideshi, Okamura Haruki, Matsunaga Hisato	4. 巻 12
2. 論文標題 Acute stress induces severe neural inflammation and overactivation of glucocorticoid signaling in interleukin-18-deficient mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Translational Psychiatry	6. 最初と最後の頁 1-10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41398-022-02175-7	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5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Kyosuke Yamanishi, Nobutaka Doe, Kiichiro Mukai, Takuya Hashimoto, Naomi Gamachi, Masaki Hata, Yuko Watanabe, Chiaki Yamanishi, Haruki Okamura, Hisato Matsunaga
2. 発表標題 Impaired neural inflammation and stress tolerance against acute restraint stress in Interleukin-18-deficient mice
3. 学会等名 33rd CINP World Congress of Neuropsychopharmacology (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山西恭輔、土江伸誉、向井馨一郎、橋本卓也、蒲池直美、秦正樹、渡辺優子、山西千晶、岡村春樹、松永寿人
2. 発表標題 インターロイキン18の急性ストレス下での脳内炎症と精神症状への影響について
3. 学会等名 第118回日本精神神経学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山西恭輔、宮内雅弘、向井馨一郎、橋本卓也、宇和典子、大谷(桑原)佐知、前田誠司、蒲池直美、李文、秦正樹、渡辺優子、山西博道、八木秀司、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様行動変化を誘導する前頭前野を中心とした分子メカニズムの探索
3. 学会等名 第117回日本精神神経学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kiyosuke Yamanishi, Masahiro Miyauchi, Keiichiro Mukai, Takuya Hashimoto, Noriko Uwa, Naomi Gamachi, Yuko Watanabe, Hiromichi Yamanishi, Haruki Okamura, Hisato Matsunaga
2. 発表標題 Transthyretin and Alpha-2-HS-glycoprotein were candidate genes involved in the development of depression in Interleukin-18-deficient mice
3. 学会等名 15th World Congress of Biological Psychiatry (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kiyosuke Yamanishi, Masahiro Miyauchi, Keiichiro Mukai, Takuya Hashimoto, Noriko Uwa, Naomi Gamachi, Yuko Watanabe, Hiromichi Yamanishi, Haruki Okamura, Hisato Matsunaga
2. 発表標題 Exploring molecular mechanisms involved in the development of depression in Interleukin-18-deficient mice
3. 学会等名 CINP 2021 Virtual World Congress (国際学会)
4. 発表年 2020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
研究協力者	岡村 春樹 (Okamura Haruki) (60111043)	兵庫医科大学・医学部 精神神経免疫学・名誉教授 (34519)	

6. 研究組織（つづき）

	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	土江 伸誉 (Doe Nobutaka) (00434879)	兵庫医科大学・リハビリテーション学部・講師 (34519)	
研究協力者	秦 正樹 (Hata Masaki) (10446057)	兵庫医科大学・医学部 精神神経免疫学・博士研究員 (34519)	
研究協力者	岡村 宣孝 (Okamura Nobutaka)	兵庫医科大学・医学部 精神科神経科学・研究生 (34519)	
研究協力者	蒲池 直美 (Gamachi Naomi)	兵庫医科大学・医学部 精神神経免疫学・実験補助 (34519)	

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