

令和 5 年 6 月 9 日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K16859

研究課題名（和文）心理的ストレスを受けた父親により運命づけられる次世代の情動機能と機序解明

研究課題名（英文）Formation of emotional functions of next generation depending on paternal psychological stress

研究代表者

清水 紀之（SHIMIZU, Noriyuki）

徳島大学・大学院医歯薬学研究部（医学域）・助教

研究者番号：70755470

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）：本研究では、心理的ストレスを継続的に受けた父親マウスに由来する次世代仔マウスでみられた情動行動異常（不安・うつ様行動、嫌悪刺激に対する極端な回避行動、社会性行動の低下）が、どのような作用機序に基づき惹起されているかを調べた。研究成果より、心理的ストレス負荷期間においてグルココルチコイド受容体拮抗剤を投与することで、次世代仔マウスの情動行動異常を回避できた。一方で、グルココルチコイド受容体作動薬を投与することで、心理的ストレスに由来した次世代マウスと同様な情動行動異常がみられた。これらの成果は、次世代の情動行動機能の構築が父親側のグルココルチコイド系の影響を受ける可能性を示唆している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

不安障害・うつ病をはじめとする精神疾患の患者数は増加しており、予防策の構築が求められている。精神疾患は、遺伝的背景や環境因子が複雑に関連しており、その作用機序は未だ明らかではない。本研究では、父親が受ける継続的なストレスが、エピジェネティクスな制御機構に基づき、どのような作用機序を介して次世代の情動機能に影響を及ぼすかを明らかにする。本研究成果は、父親が次世代の情動機能構築に果たす新たな役割と重要性を見出せるものであり、ヒトの精神疾患に対して予防の視点から貢献できる可能性を提示できるものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we investigated the mechanism of impairment of emotional behaviors (anxiety-like behavior, depression-like behavior, extreme avoidance behavior in response to aversive stimuli, and decreased social behavior) occur in offspring from paternal mice that have continuously subjected psychological stress. We found that administration of a glucocorticoid receptor antagonist (RU-486) to paternal mice during the period of psychological stress can avoid the abnormality of emotional behaviors in next-generation offspring. On the other hand, we found that continuous administration of a glucocorticoid receptor agonist (dexamethasone) to paternal mice cause the change of emotional behaviors like next-generation offspring caused by psychological stress. These suggest that next-generation construction of emotional function may be influenced by the paternal glucocorticoid system.

研究分野：環境生理学

キーワード：心理的ストレス 父親 次世代 情動機能 グルココルチコイド マウス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

精神疾患は遺伝的背景や環境因子の影響に基づき惹起されるものであり、その作用機序は多岐にわたるため未だ十分ではない。日本では不安障害・うつ病をはじめとする精神疾患の患者数は増加状態にあり、予防方法の構築が社会的に求められている。研究代表者は、心理的ストレスを継続的に受けた父親マウスに由来する次世代仔マウスで、不安・うつ様行動や軽度な痛みをともなう嫌悪刺激に対して極端な回避行動がみられる事を見出したが、その作用機序は明らかではない。

2. 研究の目的

本研究では、父親が抱える継続的な心理的ストレスがどのような作用機序を介して次世代の脳機能に影響を及ぼすかを解明し、将来に起こりうる情動行動異常に対する対処法を探索するとともに、父親が次世代の情動機能構築に果たす役割を提示する。

3. 研究の方法

研究代表者は、実験開始時 8-9 週齢の雌雄 C57BL/6J マウスを用い、下記の次世代仔マウス群を作製した。交配期間は 1-2 日間に設定し、雌性マウスのプラグを確認できた後に単離させた。誕生した次世代仔マウスは、3 週齢で離乳させ 10 週齢を迎えた時点で網羅的な行動解析を開始した。行動解析では、不安様行動 (Open field, Light-dark transition, Elevated plus maze, Marble burying) やうつ様行動 (Forced swim, Tail suspension)、社会性行動 (Social interaction, Three chamber test)、恐怖記憶 (Passive avoidance)、記憶・学習能 (Novel object recognition, Rota-rod) を調べた。血液や組織採取は、再度各次世代仔マウス群を作製し、行動実験の開始時刻に合わせて行った。

(1) 心理的ストレスの負荷

雄性マウスに対して、加工した 50 ml コニカルチューブで 1 日 2 時間の拘束ストレスを行った。拘束ストレスの期間は 2 週間とした。ストレス負荷終了後に同週齢の雌性マウスと交配させ、次世代仔マウスを作製した。また、ストレス負荷後に 2 週間の回復期を設けた仔マウス群も併せて作製した。

(2) グルココルチコイド受容体作動薬の投与

雄性マウスに対して、グルココルチコイド受容体作動薬 (デキサメタゾン) の腹腔内投与を行った。投与は 1 日 1 回であり、期間は 2 週間に設定した。投与濃度は 2 種類 (200, 400 µg/kg) とした。投与終了後に同週齢の雌性マウスと交配させ、次世代仔マウスを作製した。また、デキサメタゾン投与後に 2 週間の回復期を設けた仔マウス群も併せて作製した。

(3) グルココルチコイド受容体拮抗薬の投与

雄性マウスに対して、グルココルチコイド受容体拮抗剤 (RU-486) の腹腔内投与を行った。投与濃度は 30 mg/kg とした。投与は心理的ストレスを与える 30 分前に行った。投与期間は 2 週間とした。期間終了後、同週齢の雌性マウスと交配させ、次世代仔マウスを作製した。

(4) トレッドミル運動の負荷

雄性マウスに対して、心理的ストレスを与えた直後に 1 時間のトレッドミル運動を負荷させた。トレッドミル運動の速度は、15.7 m/min に調整した。期間は 2 週間とし、終了後は同週齢の雌性マウスと交配させ、次世代仔マウスを作製した。

(5) 高脂肪食付与

雄性マウスに対して、心理的ストレスを負荷させるとともに高脂肪食 (60kcal%脂肪含有量、D12492、リサーチダイエット社) を給餌させた。給餌期間は 2 週間とし、終了後は同週齢の雌性マウスと交配させ、次世代仔マウスを作製した。また、1 日 2 時間だけ高脂肪食を給餌させた仔マウス群も併せて作製した。

4. 研究成果

(1) 心理的ストレス負荷

心理的ストレスを 2 週間継続的に受けた父親マウスに由来する次世代仔マウスは、ストレスを受けなかった次世代仔マウスと比較し、Light-dark transition では明領域での滞在時間の減少、Forced swim, Tail suspension では無動時間の増大を呈した。Social interaction では接触時

間の減少を示し、Passive avoidance では軽度な電気刺激を受けた暗領域への進入潜時の延長がみられた。記憶・学習能および情動機能等を評価するその他の行動解析では両群間で差はみられなかった。上記のことから、心理的ストレスを受けた父親マウスに由来する次世代仔マウスでは、不安・うつ様行動や社会性行動の低下、軽度の痛みをともなう嫌悪刺激に対して極端な回避行動がみられた。一方で、心理的ストレスを受けた父親マウスに対して、2週間の回復期（ストレスをかけない期間）を設け、誕生した次世代仔マウスでは情動行動異常はみられなかった。

（２）グルココルチコイド受容体作動薬の投与

デキサメタゾンを2週間継続的に投与した父親マウスに由来する次世代仔マウスは、Vehicle 群の次世代仔マウスと比べ、不安・うつ様行動や社会性行動の低下、嫌悪刺激に対する回避行動を呈した。これらの情動行動の変化は心理的ストレスを継続的に受けた父親マウスに由来する次世代仔マウスのもと同様であった。2種類の濃度を設けたが、行動変化の程度は高濃度の方でより顕著であった。一方で、デキサメタゾン投与を受けた父親マウスに対して2週間の回復期を設けた後に交配をかけ、誕生した次世代仔マウスでは情動行動異常は確認されなかった。

（３）グルココルチコイド受容体拮抗薬の投与

RU-486 を心理的ストレス負荷前に投与した父親マウスに由来する次世代仔マウスでは、心理的ストレス負荷に由来する次世代仔マウスでみられたうつ様行動、社会性行動の低下、嫌悪刺激に対する極端な回避行動が観察されず、ストレスを受けない Vehicle 群と同程度であった。しかし、Light-dark transition では明領域での滞在時間に差がみられなかったため、不安様行動は回復しなかった。

（４）トレッドミル運動の負荷

心理的ストレス負荷後に、トレッドミル運動を1時間行った父親マウスに由来する次世代仔マウスは、心理的ストレスを受けた父親マウスに由来する次世代仔マウスと比べて、うつ様行動、社会性行動の低下、嫌悪刺激に対する極端な回避行動が観察されなかった。しかし、Light-dark transition では明領域での滞在時間に差はみられなかった。

（５）高脂肪食付与

心理的ストレスとともに高脂肪食付与を受けた父親マウスに由来する次世代仔マウスでは、心理的ストレスを受けた父親マウスに由来する次世代仔マウスと比べて、Passive avoidance での暗領域への進入潜時が短縮した。しかし、不安・うつ様行動、社会性行動の低下は回復しなかった。

（総括）

心理的ストレスを継続的に受けた父親マウスに由来する次世代仔マウスは、成熟時に情動行動異常を呈し、その状態はグルココルチコイド受容体に対する作動薬や拮抗薬を父親マウスに投与することで模倣もしくは改善することができた。このことから父親側でのグルココルチコイドシグナルの調節が、次世代の情動行動の構築に重要である可能性が明らかとなった。現在、次世代の情動機能の異常がグルココルチコイドシステムを軸にどのように惹起されているかについて、脳内分子変化に基づき解析を進めている。心理的ストレス期間時の運動負荷もしくは高脂肪食付与が情動行動の一部を是正したことや、ストレス後に回復期を設けることで、情動行動異常が消失していたことは興味深い点である。総括として、本研究を通して子作り前における父親側のストレス状態を適切に管理することで、次世代の情動行動異常を是正できる可能性を示すとともに、その予防策を提示できたと考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Shiuchi Tetsuya, Otsuka Airi, Shimizu Noriyuki, Chikahisa Sachiko, Sei Hiroyoshi	4. 巻 22
2. 論文標題 Feeding Rhythm-Induced Hypothalamic Agouti-Related Protein Elevation via Glucocorticoids Leads to Insulin Resistance in Skeletal Muscle	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 10831 ~ 10831
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms221910831	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 Dalanon Junhel, Chikahisa Sachiko, Shiuchi Tetsuya, Shimizu Noriyuki, Chavan Parimal, Suzuki Yoshitaka, Okura Kazuo, Sei Hiroyoshi, Matsuka Yoshizo	4. 巻 11
2. 論文標題 Pain sensitivity increases with sleep disturbance under predictable chronic mild stress 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/s41598-021-93560-7	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 Tanioka Daisuke, Chikahisa Sachiko, Shimizu Noriyuki, Shiuchi Tetsuya, Sakai Noriaki, Nishino Seiji, Sei Hiroyoshi	4. 巻 403
2. 論文標題 Intracranial mast cells contribute to the control of social behavior in male mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Behavioural Brain Research	6. 最初と最後の頁 113143 ~ 113143
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbr.2021.113143	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 Chavan Parimal, Chikahisa Sachiko, Shiuchi Tetsuya, Shimizu Noriyuki, Dalanon Junhel, Okura Kazuo, Sei Hiroyoshi, Matsuka Yoshizo	4. 巻 188
2. 論文標題 Dual orexin receptor antagonist drug suvorexant can help in amelioration of predictable chronic mild stress-induced hyperalgesia	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Brain Research Bulletin	6. 最初と最後の頁 39 ~ 46
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.brainresbull.2022.07.011	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 -

[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 Shimizu Noriyuki, Chikahisa Sachiko, Shiuchi Tetsuya, Sei Hiroyoshi
2. 発表標題 Glucocorticoid receptor antagonist (RU-486) prevents a defect emotional behavior observed in offspring derived from paternal mouse subjected psychological stress
3. 学会等名 NEURO2022 (第45回日本神経科学大会、第65回日本神経化学会大会、第32回日本神経回路学会大会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Shimizu Noriyuki, Chikahisa Sachiko, Shiuchi Tetsuya, Sei Hiroyoshi
2. 発表標題 Paternal exposure to psychological stress before mating may influence a formation of emotional behavior in next generation via effect of glucocorticoid
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Shimizu Noriyuki, Chikahisa Sachiko, Shiuchi Tetsuya, Sei Hiroyoshi
2. 発表標題 Exercise training of paternal mice subjected to continuous psychological stress prior to mating may modify changes in their offspring's emotional behaviors
3. 学会等名 日本生理学会 第100回記念大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Shimizu Noriyuki, Chikahisa Sachiko, Shiuchi Tetsuya, Sei Hiroyoshi
2. 発表標題 Paternal psychological stress exposure prior to mating may cause an impairment of emotional behavior in the next generation via glucocorticoid system
3. 学会等名 第46回日本神経科学大会
4. 発表年 2023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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------