

機関番号：16101

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21790308

研究課題名 (和文) 性関連精神疾患の分子基盤の解析

研究課題名 (英文) The study of the molecular mechanism of sex-related psychiatric disease

研究代表者 松本 高広 (MATSUMOTO TAKAHIRO)

徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・准教授

研究者番号：70447374

研究成果の概要 (和文)：近年、急速な高齢化社会を迎え、加齢に伴う更年期障害の一つとしてうつ病が注目を集めている。女性では閉経に伴うエストロゲンの急激な低下により、抑うつ、不安やうつ病のリスクが増加する。また、男性更年期障害としてもうつ病が広く認知されつつある。性ステロイドホルモンは種々の核内受容体を介した、標的遺伝子群の転写調節によりその生理作用が発揮される。このように、性ステロイドホルモンは抗うつ作用を有していることは明らかであるものの、その作用機序は不明な点が多い。そこで本研究では、性ステロイドホルモン依存性うつ病モデル動物の確立を図るため、アンドロゲン受容体 (AR)、及び二種のエストロゲン受容体 (ER $\alpha$ 、ER $\beta$ ) の3重欠損、2重欠損、及びそれぞれのシングル遺伝子欠損 (KO) マウスの作出を行った。3重ヘテロマウス3重KO雄マウスは正常に出生したものの、性特異的行動発現が完全に消失していたばかりでなく、明暗往来テスト、高架式十字迷路テスト、オープンフィールドテストにおいて顕著な不安行動障害が観察された。したがって、性ステロイドホルモン依存性うつ病モデルマウスの確立に成功したと判断した。次にマイクロアレイ解析により、標的遺伝子群の検索を行った。その結果、アンドロゲン受容体及びエストロゲン受容体はそれぞれ協調して、リガンド依存的に転写因子Xの転写調節を介し、セロトニン1A受容体の発現を正に調節することで、抗不安作用を発揮している可能性が示された。

研究成果の概要 (英文)：To study the role of sex hormones in life, we generated triple receptors (AR and ER  $\alpha/\beta$ ) knockout (TKO) mice. TKO male mice were born healthy but exhibited increased anxiety-like behavior with lowered post-synaptic serotonin-1A receptor in the forebrain. These data provide genetic evidence that sex steroid hormones are dispensable for the viability, but exert an anxiolytic effect via serotonin-1A receptor in males.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：病態医化学

科研費の分科・細目：基礎医学・病態医科学

キーワード：うつ病、性ホルモン

### 1. 研究開始当初の背景

加齢に伴う更年期障害の一つとしてうつ病が注目を集めている。女性では閉経に伴うエストロゲンの急激な低下により、抑うつ、不安やうつ病のリスクが増加する。また、代表的な男性更年期障害としてうつ病が広く認知されつつあり、前立腺癌治療を目的とした抗アンドロゲン療法時の副作用としてもうつ病が問題となる。一方、女性のうつ病の罹患率は男性の約2倍高いとされるが、うつ病が深く関与する自殺については、その数は圧倒的に男性がまさっている。このように、うつ病には性差が強く関与し、その要因として性ステロイドホルモン作用が寄与するものと考えられる。しかしながら、性ステロイドホルモンが抗うつ作用を有していることは明らかであるものの、その作用機序は不明な点が多い。性ステロイドホルモンの多彩な生理作用は、種々の核内ステロイド受容体群を介した、複雑多岐にわたる情報伝達機構により発揮されるが、特に抗うつ作用における標的遺伝子群とその時間・空間かつ階層的な発現調節機構は殆ど知られていない。したがって、性ステロイドホルモンに依存した気分障害関連分子の同定や細胞内情報伝達の解明、またモデル動物の確立と表現型解析が治療に大きく貢献できるものと考えられる。

### 2. 研究の目的

うつ病の発症・進行には明確な性差が存在し、その要因として性ステロイドホルモン作用の関与が挙げられる。したがって、性ホルモンに依存したうつ病関連分子の同定や細胞内情報伝達の解明、さらにモデル動物の確立が治療に大きく貢献できるものと考えられる。性ホルモンによる抗うつ作用は複数の性ステロイド受容体群を介した標的遺伝子の発現調節により発揮される。これを踏まえ、本研究では時期・組織特異的遺伝子改変技術を

導入した性ホルモン依存性うつ病モデル動物を確立し、性ホルモン依存性うつ病の発症・進行の分子基盤の解明をめざす。

### 3. 研究の方法

アンドロゲン受容体 (AR)、及びエストロゲン受容体 (ER $\alpha$ 、ER $\beta$ ) の3重欠損ヘテロマウスを作出し、さらに雌雄の3重欠損ヘテロマウスの交配により、3重欠損、2重欠損、及びそれぞれのシングル欠損ホモ (KO) マウスの作出を行った。これらマウス系統を用いて、7種の神経行動解析 (高架式十字迷路テスト、明暗往来テスト、尾懸垂テスト、強制水泳テスト、オープンフィールド、攻撃行動テスト、子育て行動テスト) を試行することにより、不安障害度を評価した。さらに、性ホルモン受容体3重欠損マウスの脳サンプルを用いたマイクロアレイ解析を行い、AR、ER $\alpha$ 、ER $\beta$ により協調的に転写制御をうける下流の標的遺伝子群の網羅的な探索を行った。特にうつ病と関連の深い神経伝達物質であるセロトニン神経関連因子に着目した。また、神経組織学的な解析を行い、うつ病病態に関連する神経領域の特定をめざした。さらに、神経培養細胞を用いて、ルシフェレースレポーターアッセイ、クロマチン免疫沈降解析を行うことで、AR、ER $\alpha$ 、ER $\beta$ による協調的な転写調節機構の解明をめざした。

### 4. 研究成果

AR、ER $\alpha$ 、ER $\beta$ の3重欠損雄マウスは正常に出生し、成長したものの、後発的に著しい肥満を呈することが明らかとなった。さらに、各種神経行動学的解析を行ったところ、高架式十字迷路テスト、明暗往来テスト、オープ

ンフィールドテストで著しい不安様行動の増加が観察された。したがって、性ホルモン依存性気分障害モデルマウスの作出に成功したと判断した。そこで、性ホルモン依存性気分障害モデルマウスを用いて、うつ病・不安障害と関連が深いセロトニン神経伝達関連因子の発現変動を検討したところ、セロトニン 1A 受容体の mRNA 発現が性ホルモン受容体 3 重欠損マウス特異的に低下していることが判明した。免疫染色により、性ホルモン受容体 3 重欠損脳におけるセロトニン 1A 受容体の発現低下領域を検討した結果、セロトニン神経の起始核である中脳背側縫線核、正中縫線核でのセロトニン 1A 受容体の発現は正常であるものの、大脳皮質及び海馬領域での発現低下が観察された。したがって、AR、ER $\alpha$ 、ER $\beta$  は大脳皮質及び海馬におけるポストシナプスのセロトニン 1A 受容体の発現制御を行っている可能性が示された。次に、AR、ER $\alpha$ 、ER $\beta$  によるセロトニン 1A 受容体の直接的な転写制御を神経培養細胞を用いて検討したが、直接的な転写制御は見出されなかった。そこで、マイクロアレイ解析により、性ホルモン受容体 3 重欠損脳において網羅的に発現変動を示す遺伝子を探索した結果、転写因子 X が特異的に低下していることが明らかとなった。神経培養細胞を用いたノックダウン実験、ルシフェーレスレポーターアッセイ、クロマチン免疫沈降解析を行った結果、アンドロゲン受容体及びエストロゲン受容体はそれぞれ協調して、転写因子 X の発現制御を正に行っていること、さらに転写因子 X はセロトニン 1A 受容体遺伝子プロモーター領域に結合し、セロトニン 1A 受容体の発現調節を行っていることが明らかとなった。これらの結果より、性ホルモン受容体群-転写因子 X-セロトニン 1A 受容体の転写制御カスケードが明らかとなり、性ホルモンによる大

脳や海馬領域におけるポストシナプス神経細胞のセロトニン 1A 受容体の発現制御を介した抗不安作用の分子基盤が示唆された。今後は、この性ホルモン依存性気分障害モデルマウスを用いて、抗うつ薬や抗不安薬のスクリーニングを行っていく必要がある。

#### 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 6 件)

1. Akimoto C et al., (他 13 名 Matsumoto T. 13 番目). TSPY represses the activity of the androgen receptor in androgen-dependent testicular germ cell tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A* (in press) 査読あり
2. Kim M., Kondo T., Takada I., Youn M., Yamamoto Y., Takahashi S., Matsumoto T., (他 13 名). DNA demethylation in hormone-induced transcriptional derepression. *Nature* 461, 1007-1012 (2009) 査読あり
3. Yoshimura K., Kitagawa H., Fujiki R., Tanabe M., Takezawa S., Takada I., Yamaoka I., Yonezawa M., Kondo T., Furutani Y., Yagi H., Yoshinaga S., Masuda T., Fukuda T., Yamamoto Y., Ebihara K., Li DY., Matsuoka R., Takeuchi JK., Matsumoto T., Kato S. Distinct function of 2 chromatin remodeling complexes that share a common subunit, Williams syndrome transcription factor (WSTF). *Proc Natl Acad Sci U S A* 106, 9280-9285 (2009) 査読あり

4. Kouzu-Fujita M., Mezaki Y., Sawatsubashi S., Matsumoto, T., (他5名).  
Co-activation of ER $\beta$  by a gonadotropin-induced cofactor GIOT-4. *Mol Cell Biol*, 29, 83-92 (2009). 査読あり

[学会発表] (計5件)

Matsumoto T. Androgen and Estrogen Receptors Triple Knockout Mice to Evaluate Sex Steroid Hormones Actions. 14<sup>th</sup> International Congress of Endocrinology2010年3月28日京都

[図書] (計1件)

松本 高広現代栄養学を理解するための分子生物学入門光生館 2010年70-74ページ

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況 (計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

[その他]

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

松本 高広 (MATSUMOTO TAKAHIRO)

徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・准教授

研究者番号：70447374

(2) 研究分担者 ( )

研究者番号：

(3) 連携研究者 ( )

研究者番号：