

令和 6 年 6 月 7 日現在

機関番号：16201

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K05998

研究課題名（和文）雌マウスを用いた新たなうつ病モデルの開発と病態解析

研究課題名（英文）Development of a novel depression model in female mice.

研究代表者

伊藤 日加瑠（Ito, Hikaru）

香川大学・医学部・准教授

研究者番号：50587392

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）：近年、うつ病罹患者数の増加が社会問題となっている。うつ病罹患者数は男性より女性の方が2倍程多いにもかかわらず、雌のうつ病モデル動物は最適なものが確立されていない。そのため、女性のうつ病の病態メカニズムに関しては、未だ不明点が多い。そこで、本研究課題において周産期における女性のうつ病を模倣する新たなうつ病モデル雌マウスを開発することを目的に実験を行った。

具体的には、周産期の雌マウスに対して慢性社会的敗北ストレス負荷を試みた。その結果として、オトリ雄マウスを伴う慢性社会的敗北ストレスを負荷した周産期雌マウスが高率に社会的回避行動やスクロース嗜好性の低下等のうつ様症状を示すことを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今後、本研究によって確立した周産期うつ病モデル雌マウスの脳病態解析を進める。それによって、周産期に起こる性ホルモンの急激な変動と精神的なストレスの複合的な要因で引き起こされる女性のうつ病病態を解明できるものと考えている。

さらには、この新規の周産期うつ病モデル雌マウスを、雄のうつ病モデルと共に解析に用いれば、そこで見出された治療薬は、男女問わず、なお且つ、周産期など性ホルモンに劇的な変化をきたす時期にも効果を示す広範囲のうつ病患者に適用できる新規の抗うつ薬となることを期待している。

研究成果の概要（英文）：In recent years, the increase in the number of patient suffering from depression has become a public problem. Although women are more than twice as likely as men to develop depression, the suitable animal model for depression using females has not been established. Therefore, the pathomechanism of depression in females is still unknown.

In this research project, we aimed to develop a new female mouse model of perinatal depression that mimics female depression during the perinatal period. We subjected female mice to chronic social defeat stress during the perinatal period. As a result, we found that perinatal female mice subjected to chronic non-discriminatory social defeat stress accompanied with sentinel male mice exhibited depression-like phenotypes such as social avoidance behavior and decreased sucrose preference at a high rate.

研究分野：神経科学

キーワード：うつ病 周産期 ストレス モデル動物 実験動物

1. 研究開始当初の背景

近年、うつ病罹患率および自殺率の増加が懸念されており、その社会的損失は膨大なものと推計され社会問題となっている。それにもかかわらず、未だ最適なうつ病治療薬の開発には至っていない。主なうつ病治療薬である **Selective serotonin reuptake inhibitors (SSRI)** では、投薬期間として2~4週間も必要であり、しかも、効果のない症例が半数以上にも及ぶ。そこで、新たな抗うつ薬の開発が急務となっているが、その病態メカニズムの解析は未だ十分ではない。その理由としては、これまで使用されてきたうつ病モデル動物には、幾つかの問題が存在する。特に問題なのは、ヒトでのうつ病罹患率は男性より女性の方が2倍程度高いが、雌を用いたうつ病モデル動物は最適なものが確立されていない。女性は、妊娠期や産後授乳期などの周産期に、女性ホルモンの急激な変動による情緒不安定に加え、休職など急激な社会活動の変化を強いられ精神的ストレスが増し、うつ病を発症することが多い(マタニティーブルーや産後うつ等)。しかし、これまでの多くのうつ病研究では雄モデルが用いられている。

2011年に **Golden** 博士らによって慢性社会的敗北ストレスうつ病モデルと呼ばれるヒトが受ける精神的ストレスに最も近い方法のモデルが確立され (**Golden et al., 2011**)、近年、多くのうつ病研究に用いられている。この方法では、攻撃性の高い **ICR** 雄マウスのケージに、**C57BL6/J** の雄マウスを1日10分間、10日間連続で同居させることで、うつ病モデルマウスを作製する。**C57BL6/J** の雄マウスは同居している10分間、**ICR** 雄マウス(ストレッサー)から侵入者として追跡されたり、攻撃されたりすることで精神的ストレスを受ける。この**C57BL6/J** 雄マウスは毎日異なる **ICR** 雄マウスのケージに投入され、10日間敗北ストレスを受け続ける。この方法で作製されたうつ病モデル雄マウスは、社交性が低下し、甘味料などへの嗜好性を失う。

しかし、この慢性社会的敗北ストレスを雌マウスへ応用することは難しい。その理由としては、攻撃性の高い雄マウス(ストレッサー)のケージに雌マウスを投入しても、雌マウスは交配相手として認識され、攻撃対象にはならないからである。既に、国内外の幾つかの研究グループは、雌マウスを用いた慢性社会的敗北ストレスうつ病モデルの必要性を訴え、既に論文発表している。1つ目は、遺伝子改変により攻撃行為の盛んなストレッサー(攻撃者)を用いて雌に攻撃させる方法 (**Takahashi et al., 2017**)。2つ目は、ストレスを受ける雌マウスの外陰部に雄の尿を塗布することでストレッサー(攻撃者)に攻撃対象として認識させる方法 (**Harris et al., 2018**)。3つ目は、ストレッサー(攻撃者)が、弱い雄マウスを攻撃している様子を雌マウスに見せる方法である (**Iniguez et al., 2018, Yohn et al., 2019**)。いずれのモデルも他の複数の研究グループによって引用されておらず、うつ病モデル雌マウスの確立には至っていない状況である。そのため、女性のうつ病の病態メカニズムに関しては、未だ不明点が多く残されたままである。

2. 研究の目的

本研究課題において周産期における女性のうつ病患者を模倣する新たな周産期うつ病モデル雌マウスを開発することを目的に実験をおこなった。

具体的には、妊娠雌マウスに対して慢性社会的敗北ストレス負荷を試みた。妊娠雌マウスを使う主な理由は以下の3つとなる。①女性のうつ病として罹患率が高い周産期うつ病を模倣するため(特に出産時には急激な性ホルモンの変化が起こる)。②妊娠雌マウスを用いることで、ストレッサー(攻撃者)となる雄マウスは雌を交配相手として認識しない(少なくとも妊娠雌マウスは発情しないため、雄を受け入れない)。③妊娠期や授乳期の雌は、他者に過敏になり高い攻撃性も示す(子孫を守るため)。以上の理由から、攻撃性の高い雄マウスのケージに日々投入され、侵入者として追跡や接触されることは妊娠雌マウスにとっても十分な精神的ストレスになると考えられる。その結果として作製されたうつ病モデル雌マウスによって、周産期に起こる女性ホルモンの急激な変動と精神的なストレスの複合的な要因で引き起こされる女性のうつ病を模倣できるものと考えている。さらには、最適な周産期うつ病モデル雌マウスが確立され、雄のうつ病モデルと共に解析に用いれば、そこで見出された治療薬は、男女問わず、なお且つ、周産期など性ホルモンに劇的な変化をきたす時期にも効果を示す広範囲のうつ病患者に適応できる新規のうつ病治療薬となることが期待できる。

3. 研究の方法

本研究課題では、**Golden** 博士らによって確立された雄のうつ病モデル作製方法に準じた慢性社会的敗北ストレス負荷をおこなった。具体的には、攻撃性の高い **ICR** 雄マウス(ストレッサー)のケージに3ヶ月齢の **C57BL/6J** 妊娠雌マウスを1日30分間同居させた(**SDS** 群、図1)。また、ストレッサーである **ICR** 雄マウスの攻撃行動を誘引するために、オトリである **C57BL/6J** 雄マウスと共に **C57BL/6J** 妊娠雌マウスを30分間同居させる群(**ND-**

SDS 群、図 1) も作製した。いずれの場合も、1 日 30 分間の社会的敗北ストレスを 10 日間繰り返し実施した。

さらには、コントロールとして非妊娠雌マウスにも同様のストレス負荷を実施した。なお、妊娠雌マウスでは、妊娠 11 日目から 20 日目 (産後 1 日目) までの 10 日間ストレス負荷をおこなった (図 2)。その後、ストレス負荷をした雌マウスを用いて社会的回避行動試験を実施し、ストレスサーマウスへの接触率を測定した。また併せて、オープンフィールドテストとスクロース嗜好性試験をおこない、うつ様症状の有無を確認した。(うつ病様マウスでは、ストレスサーマウスへの接触率および活動量が低下し、スクロースの嗜好性が下がる)。さらに、出生仔数の観察やストレスホルモンであるコルチコステロンの血中濃度なども測定した。

4. 研究成果

1) 社会的回避行動テスト

SDS を負荷した雌マウスでは非妊娠、周産期ともに社会的回避行動を示すストレス感受性個体は少なかった (図 3 B&C)。それに対して、ND-SDS を負荷した雌マウスは、非妊娠、周産期ともに高率に社会的回避行動を示した (図 3 D)。

2) オープンフィールドテスト、スクロース嗜好性試験

非妊娠の雌マウスでは SDS 群、ND-SDS 群ともにオープンフィールドテスト、スクロース嗜好性試験において、有為な差はみられなかった (図 4 B)。しかし、周産期に ND-SDS を負荷した雌マウスでは新規環境下での活動量低下 (図 4 C) およびスクロース (甘味料) に対する嗜好性低下がみられた。

3) 血中コルチコステロン濃度

周産期に ND-SDS を負荷した雌マウスのうち、ストレス感受性群においては、血中のコルチコステロンが有意に増加していた (図 5 B)。

4) 体重

ストレスを負荷した全ての群で体重の有意な差はみられなかった。

5) 出産日、産仔数

周産期にストレスを受けた雌マウスの出産日や産仔数にも有意な差はみられなかった (図 6 A&B)。

以上の結果から、周産期に ND-SDS を受けた雌マウスは高率に社会的回避行動、探索行動の低下、スクロース嗜好性の低下を示すことが明らかとなった。今後は、この周産期に ND-SDS を負荷した周産期うつ病モデルマウスを用いて脳病態解析を進めることで、新たな治療法や予防法を見出すことが出来るものと考えている。

本研究は科研費 21K05998 の支援を受けて実施した。また、上記の成果については、2024 年 2 月の Brain research 誌に掲載された (本研究代表者が責任著者*)。

図 1.

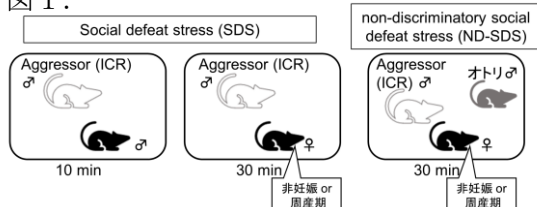


図 2.

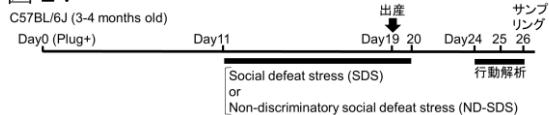


図 3. 社会的回避行動テスト

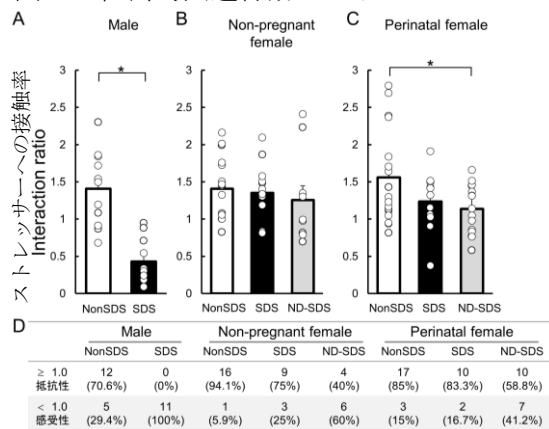


図 4. オープンフィールドテスト

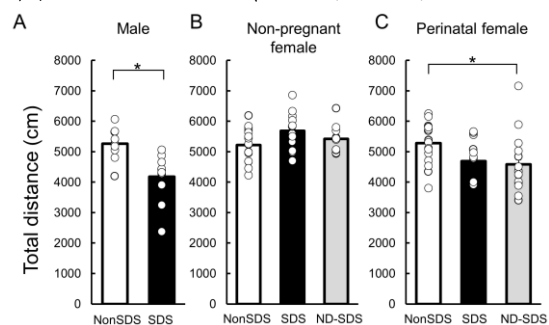


図 5. 血中コルチコステロン濃度

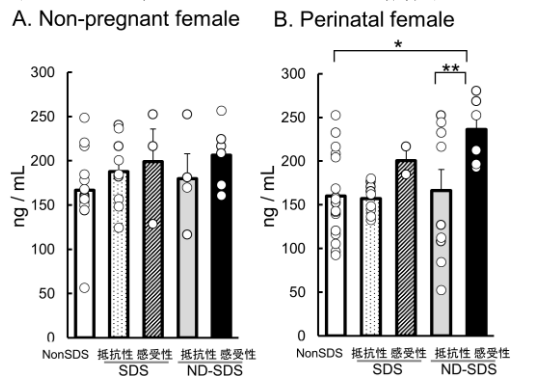
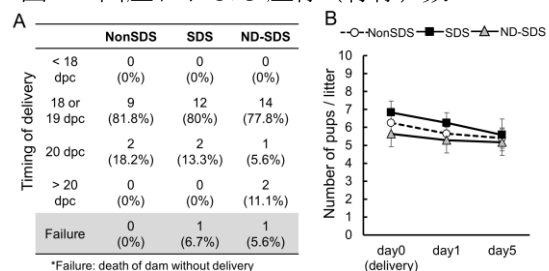


図 6. 出産日および産仔 (育仔) 数



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Ito Masumi, Ito Hikaru, Miyoshi Kaori, Kanai-Azuma Masami	4. 巻 1825
2. 論文標題 Chronic non-discriminatory social defeat stress during the perinatal period induces depressive-like outcomes in female mice	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Brain Research	6. 最初と最後の頁 148734 ~ 148734
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.brainres.2023.148734	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 Li Wan-Ru, Nakano Takashi, Mizutani Kohta, Matsubara Takanori, Kawatani Masahiro, Mukai Yasutaka, Danjo Teruko, Ito Hikaru, Aizawa Hidenori, Yamanaka Akihiro, Petersen Carl C.H., Yoshimoto Junichiro, Yamashita Takayuki	4. 巻 33
2. 論文標題 Neural mechanisms underlying uninstructed orofacial movements during reward-based learning behaviors	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Current Biology	6. 最初と最後の頁 3436 ~ 3451.e7
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.cub.2023.07.013	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 該当する

1. 著者名 YOMOGITA Hiroshi, ITO Hikaru, HASHIMOTO Kento, KUDO Akihiko, FUKUSHIMA Toshiaki, ENDO Tsutomu, HIRATE Yoshikazu, AKIMOTO Yoshihiro, KOMADA Masayuki, KANAI Yoshiakira, MIYASAKA Naoyuki, KANAI-AZUMA Masami	4. 巻 69
2. 論文標題 A possible function of Nik-related kinase in the labyrinth layer of delayed delivery mouse placentas	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Reproduction and Development	6. 最初と最後の頁 32 ~ 40
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1262/jrd.2022-120	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2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 伊藤日加瑠、野崎香菜子、相澤秀紀
2. 発表標題 慢性ストレス負荷うつ病モデルマウスの手綱核におけるPcsk5発現増加と神経炎症
3. 学会等名 第69回日本実験動物学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 伊藤 日加瑠、伊藤 益美、三好 香央梨、金井 正美
2. 発表標題 新たなうつ病モデル雌マウスの作製
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
---------	---------