

令和 6 年 6 月 15 日現在

機関番号：34512

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K07343

研究課題名（和文）幼少期＋思春期ストレス負荷マウスを使った心の病の発症機序解明：脳骨髄相関を中心に

研究課題名（英文）Investigation of the cause of mental illnesses using model mice with early-life and adolescent stress

研究代表者

安宅 弘司（ATAKA, KOJI）

神戸薬科大学・薬学部・特任助教

研究者番号：30563358

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,900,000円

研究成果の概要（和文）：いじめを受けたマウスは、攻撃マウスに対する耐性群と脆弱性群に分けることができ、両群間で摂食量に有意な差が認められた。両群とも、うつ様行動と社会性行動に変容が認められた。視床下部の摂食関連ペプチドの発現において、耐性群では5因子が、脆弱群では4因子が有意に変化していた。攻撃性マウスにおいては、摂食量が増加し、うつ様行動と不安様行動が認められた。視床下部の摂食関連ペプチドの発現において、6因子が増加し、それらのアゴニストまたはアンタゴニストを脳室内投与することで、攻撃性惹起、うつ様行動、不安様行動が改善された。心理ストレス負荷マウスで、摂食量変化、不安様行動、骨髄由来細胞変化が認められた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究において、攻撃性マウスにおいて、視床下部の摂食関連ペプチドと攻撃性、不安、うつとは関連しており、摂食関連ペプチド受容体拮抗薬または作用薬でこれらの心身症状を改善できることが示唆された。いじめや通り魔などの暴力行為について摂食関連ペプチドを標的とした治療戦略を構築できる可能性がある。いじめを受けるマウスにおいては、脆弱性を示す場合にのみ摂食量が増加し、脆弱性群、耐性群の両方で、うつ様行動、摂食関連ペプチドの変容が認められた。さらなる研究が必要ではあるが、いじめによる心身症と摂食関連ペプチドには関連性があり、攻撃性と同様に、摂食関連ペプチドを標的とした治療戦略を提案できる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：The bullied mice were divided into a resilience group and a susceptible group to aggressive mice, and a significant difference in food intake was observed between the two groups. Changes in depressive-like behavior and social behavior were observed in both groups. Regarding the expression of feeding-related peptides in the hypothalamus, 5 factors were significantly changed in the resistant group and 4 factors were significantly changed in the vulnerable group. In aggressive mice, food intake changed and depression-like and anxiety-like behaviors were observed. Six factors were altered in the expression of feeding-related peptides in the hypothalamus, and intracerebroventricular administration of their agonists or antagonists improved aggression, depression-like behavior, and anxiety-like behavior. Changes in food intake, anxiety-like behavior, and changes in bone marrow-derived cells were observed in mice subjected to psychological stress.

研究分野：心身症、薬理学、動物行動評価

キーワード：いじめ 摂食関連ペプチド 攻撃性惹起 いじめ被害者 いじめ加害者 うつ

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

親からの独立心が進み精神的に不安定になりやすい思春期では、さまざまな心の病が発症する。その多くは精神的身体的 QOL を低下させるだけでなく、重症化により薬物依存や自殺企図を増加させ治療が困難な疾患である。そのなかで、本研究ではストレス社会の現在において急増している、いじめ、あおり運転、通り魔など、他者からのいわれなき暴力においても例外ではなく、被害者の心身症に対しては心理学的アプローチが施されるが、効果は限定的である。一方、加害者への攻撃性惹起を抑制する治療戦略はいまだない。思春期での心の病の発症機構は完全には解明されておらず、有効な治療法は確立されていない。よって、1) なぜ心の病が発症するのか、2) 治療標的となる因子は何なのか、の2つの「問い」に対する答えを得るためには、今までとは異なる切り口が必要である。

われわれは、ピロリ菌産生毒素が視床下部の摂食関連ペプチドの一つであるウロコルチン 1 (Ucn1) およびその受容体を介して摂食を抑制し不安を惹起すること (Suzuki et al, *Sci Rep.* 9:1:6011. 2019)、拒食症モデルマウスではストレス・摂食中枢である視床下部内で摂食促進ペプチドである神経ペプチド Y (NPY) を介して認知認識能力が低下し、Y5 受容体拮抗薬投与により改善すること (Rokot et al, *Psychoneuroendocrinology.* 126:105133.2021)、マイオカインであるマスキリンが摂食抑制ペプチドである Ucn2 を介してうつ様行動を抑制すること (*Front Endocrinol (Lausanne).* 14:1288282. 2023) を示している。すなわち、摂食関連ホルモンは食欲だけでなく情動行動を制御している。さらには、先行研究 (基盤研究(C)15K08923、研究代表安宅) において拒食症モデルマウスではストレス・摂食中枢である視床下部に骨髄由来細胞が浸潤していることを見出している。骨髄由来細胞は、慢性ストレスにより視床下部や扁桃体に集積し不安を惹起し (Ataka et al, *Plos One* e81744 2013, Sawada et al, *Pain* 155:9:1762-1772, 2014)、絶食ストレスでは食欲制御に関与している (Urabe et al, *Nat Commun.* 4: 1526. 2013)。よって、骨髄由来細胞は情動行動を制御するまったく新しい因子となる可能性が考えられる。しかしながら、心の病における「ストレス⇒骨髄由来細胞浸潤⇒摂食関連ペプチド変化」の関連についてはまだ解明できていない。

2. 研究の目的

本研究では、今社会問題となっているいじめに着目し、いじめ加害者モデルとして長期間単独飼育マウスといじめ被害者モデルとして社会的敗北ストレスマウスを使って、摂食行動、不安・うつ様行動、視床下部内の摂食関連ペプチドを検証し、いじめにおける情動行動の変容に関連する摂食関連ペプチドを同定することを行った。さらに、骨髄由来細胞と不安様行動の関連がわかっている慢性心理的ストレス負荷マウスでの骨髄内幹細胞について検証を行った。

3. 研究の方法

単独飼育 (いじめ加害者モデル): 4 週齢雄性マウスを 90 日間個別ケージで飼育した。対照とし

て4週齢雄性マウス2匹をペア飼育した。

社会的敗北ストレス (いじめ被害者モデル): ひとつのケージを透明なアクリル板で仕切り、2つの飼育スペースを確保し、その一方の飼育スペースに攻撃性が認められた8週齢雄性 CD-1 マウスを入れ1週間飼育した。次に、5週齢雄性マウスを5 - 10分間、CD-1 マウス飼育スペースに入れ攻撃を受けさせた後、隣のもう一方の飼育スペースに入れ維持した。次の日に別の攻撃性 CD-1 マウスの飼育スペースに入れ攻撃を受けさせた後、隣の飼育スペースで維持した。これを10日間続けた。

行動評価: 行動評価はビデオ撮影し、トラッキングシステムで解析した。

攻撃性行動: 被験マウスをケージに入れ、5分間放置した。そこに同週齢のマウスを入れ、被験マウスの攻撃行動開始までの時間を評価した。

攻撃性マウスへの社会性行動評価: ケージに空の網目の筒をおき、被験マウスを入れ150秒間自由に探索させた。次に筒の中にあらたな攻撃性 CD-1 マウスを入れ、被験マウスを入れ150秒間自由に探索させた。CD-1 マウスが入っている筒の付近エリアへの滞在時間を計測し、対照群であるペア飼育マウス (非ストレス) に対する相対滞在時間 (%) として評価した。

うつ様行動 (強制水泳試験): 被験マウスを水の入った円形水槽に入れ5分間自由に泳がせ、不動時間を計測した。

不安様行動: 高架式十字迷路上に被験マウスを置き、5分間自由に探索させ、オープンアーム内の滞在時間/オープンアームとクローズドアームの滞在時間 (%) を評価した。

新奇マウスへの社会性行動: 3チャンバー装置を用意し、被験マウスをそこに入れ2分間自由に探索させた。次に片側の部屋の円筒にマウスを入れ、5分間、自由に探索させた。次に、残りの円筒にあらたなマウス (新奇マウス) を入れ、5分間、自由に探索させた。新奇マウスへの探索時間/ (新奇マウスへの滞在時間+見慣れたマウスへの探索時間) を新奇マウス探索指数として評価した。

mRNA 発現計測: 評価対象マウスから床下部を摘出し、プロオピオメラノコルチン (POMC)、コカイン-アンフェタミン調節転写物 (CART)、バソプレッシン (AVP)、オキシトシン (OXT)、ヒポクレチン/オレキシン (Hcr/Orx)、神経ペプチド Y (NPY)、アグーチ関連ペプチド (AgRP)、コルチコトロピン放出因子 (CRF)、ウロコルチン (Ucn) 1、2、3、ネスファチン、脳由来神経栄養因子 (BDNF) の mRNA 発現をリアルタイム PCR で評価した。

受容体作動薬、拮抗薬投与: マウスを11週間単独飼育し、脳室内投与用のカテーテルを留置後さらに1週間単独飼育した。これらのマウスに、WAY-267464 (OXT 受容体拮抗薬)、AVP、NBI 35965 (CRF 1型受容体 (CRF1R) 拮抗薬)、THIQ (メラノコルチン 4型受容体 (MC4R) 作動薬)、または YNT 185 (Orx2 型受容体 (Orx2R) 作動薬) 投与を脳室内投与し30分後に行動評価を行った。

4. 研究成果

<単独飼育モデル>

単独飼育により攻撃性が有意に惹起し、摂食量と体重が有意に増加した (図1)。

うつ様行動と不安様

行動の増加が認められた (図2)。

mRNA 発現：視床下部の mRNA 発現では、POMC、CART、AVP、OXT、Hcrtr/Orexin が有意に減少し、(Ucn1) が有意に増加していた (図3)。

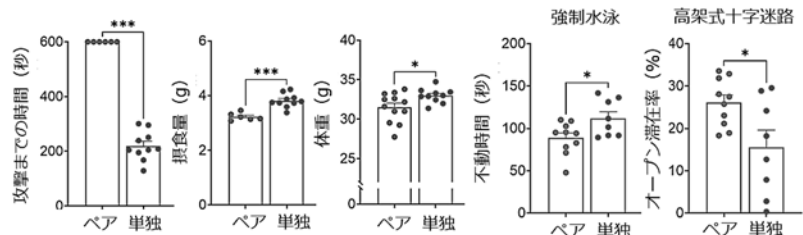


図1 単独飼育での攻撃性、摂食量、体重変化

図2 単独飼育でのうつ様行動と不安様行動

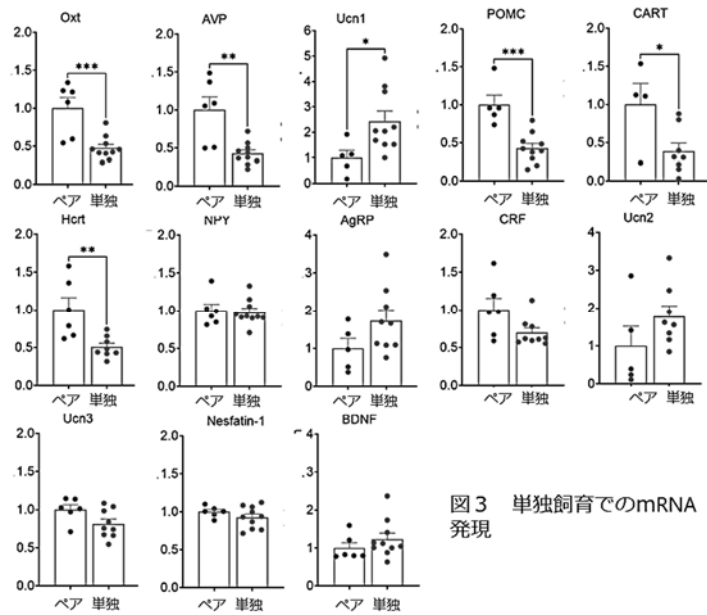


図3 単独飼育でのmRNA発現

受容体拮抗薬、作動薬投与：WAY-267464 (OXT 受容体拮抗薬)、AVP、NBI 35965 (CRF1R 拮抗薬) を脳室内投与することで攻撃性惹起が有意に抑制された (図4)。WAY-267464 投与により摂食量とうつ様行動が有意に減少した (図4、5)。THIQ (メラノコルチン4型受容体 (MC4R) 作動薬) 投与により摂食量は減少した (図4)。AVP、NBI 35965、または YNT 185 (Orexin 2型受容体 (Orexin2R) 作動薬) 投与により不安様行動が有意に増加した (図5)。

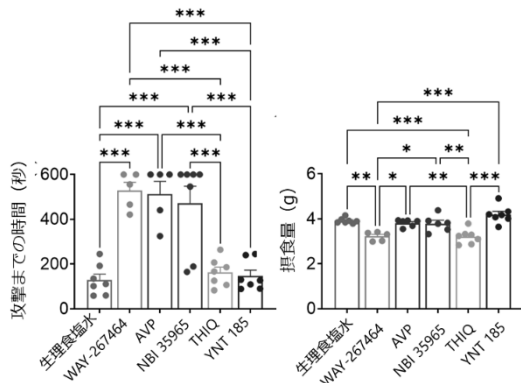


図4 単独飼育誘発の攻撃性惹起、摂食量に対する受容体拮抗薬、作動薬の効果

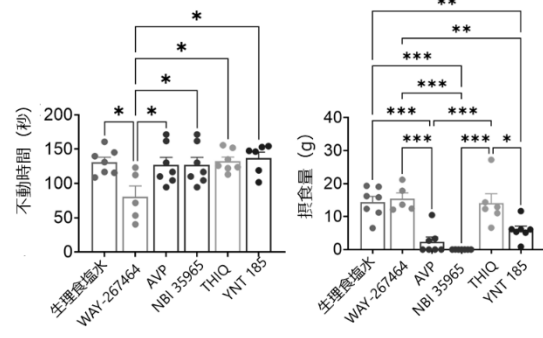


図5 単独飼育誘発のうつ様、不安様行動に対する受容体拮抗薬、作動薬の効果

<社会的敗北ストレスモデル>

社会的敗北ストレス負荷マウスにおいて、攻撃性マウスへの相対探索時間が長い耐性群と探索時間が短い脆弱性群に分かれた(図6)。さらに、脆弱性群においては摂食量が増加していた(図6)。両群とも、うつ様行動が増加し、新奇マウスへの社会性行動に変化が認められた(図7)。

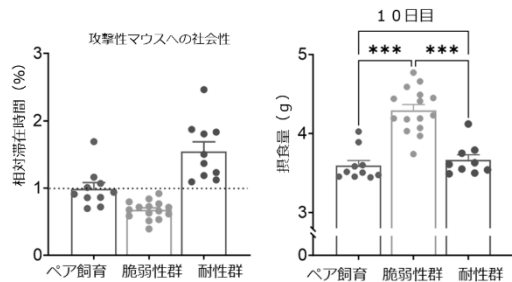


図6 社会的敗北ストレスでの脆弱性と摂食量

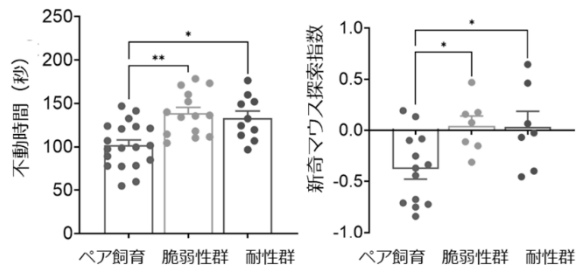


図7 社会的敗北ストレスでのうつ様行動と新奇マウスへの社会性行動

mRNA 発現 :

視床下部内の摂食関連ペプチドの mRNA 発現においては、耐性マウスにおいて POMC が有意に増加し、耐性と脆弱性の両方においてアグーチ関連ペプチド (AgRP)、CART、CRF、AVP が有意に減少していた(図8)。

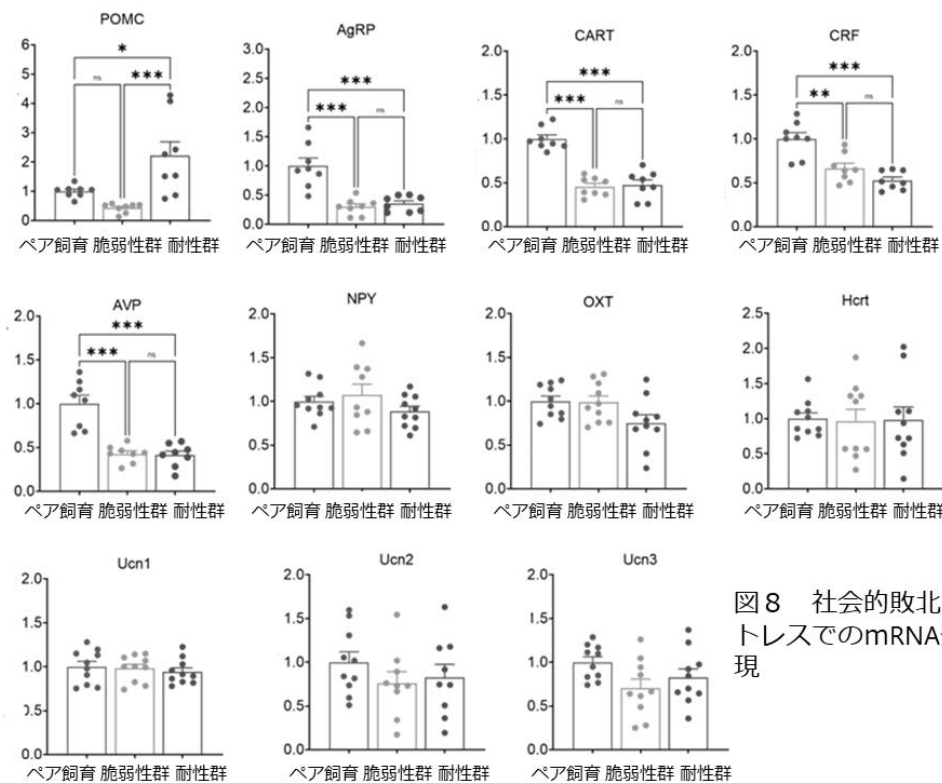


図8 社会的敗北ストレスでのmRNA発現

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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	富原 一哉 (Tomihara Kazuya) (00272146)	鹿児島大学・法文教育学域法文学系・教授 (17701)	
研究分担者	浅川 明弘 (Asakawa Akihiro) (10452947)	鹿児島大学・医歯学域医学系・教授 (17701)	
研究分担者	岩井 治樹 (Iwai Haruki) (30452949)	鹿児島大学・医歯学域歯学系・助教 (17701)	

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