

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年4月11日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22790249

研究課題名（和文） 炎症関連分子に着目した情動行動を司る神経回路の可塑性と分子基盤の解明に関する研究

研究課題名（英文） Research on neural plasticity and molecular basis underlying emotional behaviors with emphasis on roles of inflammation-related molecules

## 研究代表者

古屋敷 智之 (FURUYASHIKI TOMOYUKI)

京都大学・医学研究科・助教

研究者番号：20362478

研究成果の概要（和文）：慢性ストレスは抑うつや不安など情動行動の変化を引き起こすが、その機序は不明である。本研究では、マウスうつ病モデルである反復社会挫折ストレスにおいて、炎症関連分子であるプロスタグランジン（PG）E<sub>2</sub>とその受容体 EP1 が前頭前皮質ドパミン系の抑制を介して情動変化を誘導することを示した。さらに、反復社会挫折ストレスによる情動変化に PG 合成酵素 COX1 が必須であること、COX1 がミクログリアに発現することを示し、反復ストレスにミクログリアでの PGE<sub>2</sub> 生成が関わる可能性を提示した。

研究成果の概要（英文）：Chronic stress causes emotional changes, such as depression and anxiety. However, the underlying mechanism remains unknown. We have employed repeated social defeat stress, a mouse model of major depression, and have shown that prostaglandin (PG) E<sub>2</sub> and its receptor EP1 mediate emotional changes by chronic stress through attenuation of prefrontal dopaminergic activity. Further, cyclooxygenase (COX) 1, a PG synthase expressed in microglia in the brain, is critical for emotional changes by repeated social defeat, suggesting a potential role of PGE<sub>2</sub> synthesis in microglia.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011年度	1,500,000	450,000	1,950,000
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・薬理学一般

キーワード：中枢・末梢神経

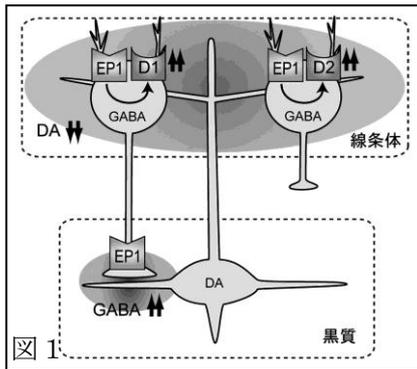
## 1. 研究開始当初の背景

うつ病や統合失調症などの精神疾患の発症には、遺伝因子に加え、心理ストレスなど環境因子の重要が知られる。しかし、ストレスの作用には不明な点が多く、ストレスを標的とした精神疾患創薬は確立していない。過去の臨床研究から、うつ病や統合失調症などの末梢血や脳脊髄液では炎症関連分子の増

加が報告されてきた。さらに近年、プロスタグランジン (PG) 合成阻害薬である非ステロイド系抗炎症薬が、既存の抗うつ薬や抗精神病薬の作用を増強するとの臨床報告がなされた。これらの結果から、精神疾患と炎症関連分子とくに PG の関与が注目されている。

PGE<sub>2</sub> は PG の一種で、炎症や免疫応答への関与が知られる生理活性脂質である。アラ

キドン酸よりシクロオキシゲナーゼ (COX) と PGE<sub>2</sub> 合成酵素を介して産生され、EP1、EP2、EP3、EP4 の 4 種の G 蛋白共役型受容体を介して作用を発揮する。これまでの解析から我々は、PGE<sub>2</sub>-EP1 系が脳内のドパミン系を抑制することで、急性の心理ストレス下における衝動性を制御すること、さらに EP1 はドパミン神経細胞への抑制性シナプスに局在し、このシナプス入力を増強することを示してきた (Furuyashiki, Narumiya, *Nat. Rev. Endocrinol.*, 2011; 図 1)。しかし、慢性ストレスによる抑うつや不安の誘導に PGE<sub>2</sub> が関与するか、またその作用機序については不明であった。



## 2. 研究の目的

本研究では、情動制御における PGE<sub>2</sub>-EP1 の役割に着目して、慢性ストレスによる抑うつや不安など情動変化を司る神経回路の可塑性と分子基盤を解析する。

## 3. 研究の方法

本研究では、マウスうつ病モデルとも言われる反復社会挫折ストレスを用いた。このモデルでは、オスの C57BL/6 マウスを、体格が優位で攻撃性が強い ICR マウスからの攻撃に、一日 10 分間 10 日間連続で暴露する。この攻撃により社会挫折が誘導され、新規個体からの社会的忌避行動、報酬嗜好性の低下、高所での不安亢進など情動行動の変化が生ずる。

まず、EP1 や COX の遺伝子欠損マウスを社会挫折ストレスに供し、それぞれの分子の関与を調べた。並行して、反復社会挫折ストレスによる神経回路の変化を、神経活動の指標である c-fos の発現やドパミン系の活動性の指標であるドパミン代謝回転を計測することで調べた。野生型マウスと遺伝子欠損マウスの結果を比較し、反復社会挫折ストレスにおける PGE<sub>2</sub>-EP1 系の作用の同定を試みた。

EP1 と異なり、情動制御における COX の役割は不明な点が多い。反復ストレスに COX が関与した場合には、COX の脳内局在を免疫染色により同定し、その作用機序を調べた。

## 4. 研究成果

反復社会挫折ストレスに EP1 欠損マウスを供したところ、野生型マウスと異なり、新規個体への社会的忌避行動や高所における不安行動亢進を認めなかった (図 2)。

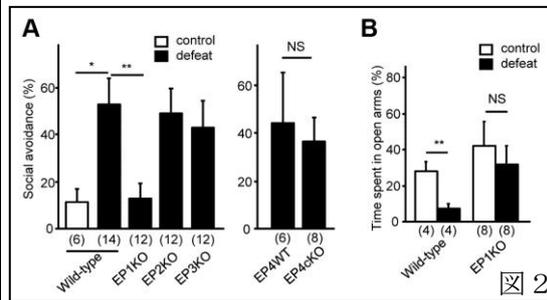


図 2

これまでの解析から EP1 が中脳ドパミン系を抑制することが知られてきたことから、反復ストレスによる神経回路の変化をドパミン系に着目して解析した。情動制御に関わるドパミン神経は腹側被蓋野 VTA に局在する。まず、社会挫折ストレスによるドパミン神経細胞の活性化を野生型マウスで検討した。神経活動マーカーである c-fos の免疫染色では、単回のストレスにより VTA ドパミン神経細胞に著明な c-fos の発現を認めた。この c-fos 発現は、社会挫折ストレスの反復により減弱した。EP1 欠損マウスでは、単回ストレスによる VTA ドパミン神経細胞での c-fos 発現は野生型マウスと変わらなかったが、反復ストレスによる c-fos の減弱は消失した (図 3 A)。VTA ドパミン神経細胞は、前頭前皮質や側坐核に投射して作用を発揮する。ドパミンは放出後速やかに代謝されることから、ドパミン代謝回転はドパミン放出の間接的な指標とされる。各領域のドパミン応答をドパミン代謝回転を指標に検討したところ、単回の社会挫折ストレスにより前頭前皮質に選択的なドパミン応答が起こること、この皮質ドパミン応答が社会挫折ストレスの反復により減弱することを見出した。さらに、c-fos の結果に合致し、EP1 欠損マウスでは単回の社会挫折ストレスによる皮質ドパミン応答には異常を認めないが、ストレスの反復による皮質ドパミン応答の減弱は認めなかった (図 3 B)。これらの結果は、反復ストレスによる前頭前皮質ドパミン系抑制に PGE<sub>2</sub>-EP1 系が必須であることを示している。

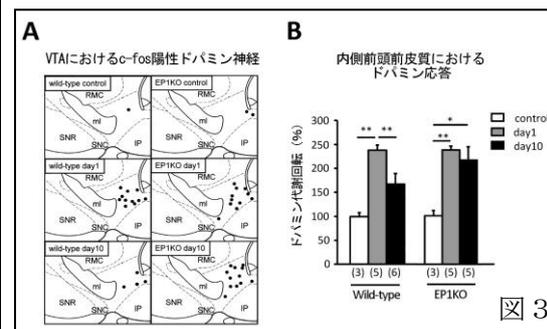
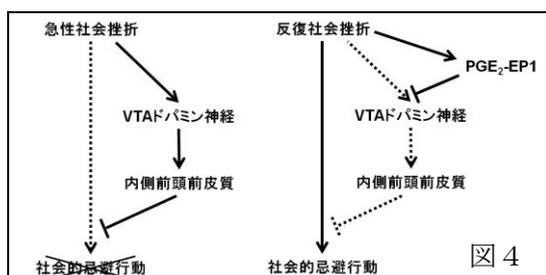


図 3

EP1 による前頭前皮質ドパミン系の抑制の意義を調べるため、EP1 欠損マウスにドパミン D1 受容体阻害薬を投与したところ、反復ストレスによる社会的忌避反応は回復した。さらに、前頭前皮質にモノアミン系毒素である 6-hydroxydopamine を局所投与し、前頭前皮質のドパミン終末を特異的に損傷したところ、通常は社会的忌避行動を誘導しない単回の社会挫折ストレスによっても、著明な社会的忌避行動が誘導された。これらの結果は、単回ストレスによる情動変化は前頭前皮質ドパミン系の活性化により抑制されること、反復ストレスでは PGE<sub>2</sub>-EP1 系により前頭前皮質ドパミン系が抑制され、情動変化が誘導されることを示唆する (図 4)。



反復ストレスの検出機構に迫るため、我々は PGE<sub>2</sub> の生成源の同定を試みた。PGE<sub>2</sub> の生成に必須である COX には COX1 と COX2 の二つのアイソフォームが存在し、発現や機能が異なる。それぞれの遺伝子欠損マウスを反復社会挫折ストレスに供したところ、COX1 欠損マウスでは反復ストレスによる社会的忌避行動を認めなかった。COX2 欠損マウスでは野生型マウスと比べ有意な差を認めなかった。これらの結果に合致し、COX1 特異的阻害薬の投与により反復社会挫折ストレスによる社会的忌避行動が消失した。社会挫折ストレスでは COX1 の発現量に変化はなく、社会挫折ストレスの前後を通して、脳内ではミクログリアに選択的な発現を認める。ミクログリアの活性化マーカーである Iba-1 の免疫染色では、反復社会挫折ストレスにより VTA や前頭前皮質など多様な脳領域においてミクログリアの Iba-1 シグナルが増強し、また細胞体が大きくなり突起が多くなるといったミクログリアの形態変化も認めた。このことから、反復ストレスによる情動変化の誘導に、ミクログリアの活性化に伴う COX1 依存的な PGE<sub>2</sub> 生成が関与する可能性が示唆された。

## 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 10 件)

- ① Hamaguchi, K., Yamamoto, N., Nakagawa, T., Furuyashiki, T., Narumiya, S., Ito, J. Role of PGE-type receptor 4 in auditory function and noise-induced hearing loss in mice. **Neuropharmacology** 62, 1841-1847 (2012). (査読有)  
doi:10.1016/j.neuropharm.2011.12.007
- ② Shinohara, R., Thumkeo, D., Kamijo, H., Kaneko, N., Sawamoto, K., Watanabe, K., Takebayashi, H., Kiyonari, H., Ishizaki, T., Furuyashiki, T., Narumiya, S. A role for mDia, a Rho-regulated actin nucleator, in tangential migration of interneuron precursors. **Nat. Neurosci.** 15, 373-380 (2012). (査読有)  
doi:10.1038/nn.3020
- ③ Tanaka, K.\*, Furuyashiki, T.\*#, Kitaoka, S.\*, Senzai, Y.\*, Imoto, Y., Segi-Nishida, E., Deguchi, Y., Breyer, R.M., Breyer, M.D., Narumiya, S.# (\*equally contributed, #corresponding authors) Prostaglandin E<sub>2</sub>-mediated attenuation of mesocortical dopaminergic pathway is critical for susceptibility to repeated social defeat stress in mice. **J. Neurosci.** 32, 4319-4329 (2012). (査読有)  
doi:10.1523/JNEUROSCI.5952-11.2012
- ④ 田中 昂平, 古屋敷 智之「ストレスにおけるプロスタグランジン系の役割と抗うつ薬の創薬」日本薬理学雑誌, 139 巻, 152-156 頁 (2012). (査読無)
- ⑤ Aoki, T., Nishimura, M., Matsuoka, T., Yamamoto, K., Furuyashiki, T., Kataoka, H., Kitaoka, S., Ishibashi, R., Ishibazawa, A., Miyamoto, S., Morishita, R., Ando, J., Hashimoto, N., Nozaki, K., Narumiya, S. PGE<sub>2</sub>-EP2 receptor signaling in endothelium is activated by hemodynamic stress and induces cerebral aneurysm through an amplifying loop via NF-κB. **Br. J. Pharmacol.** 163, 1237-1249 (2011). (査読有)  
doi:10.1111/j.1476-5381.2011.01358.x
- ⑥ Narumiya, S., Furuyashiki, T. Fever, inflammation, pain and beyond: prostanoid receptor research during these 25 years. **FASEB J.** 25, 813-818 (2011). (査読無)  
doi:10.1096/fj.11-0302ufm
- ⑦ Furuyashiki, T., Narumiya, S. Stress

responses: the contribution of prostaglandin E<sub>2</sub> and its receptors. **Nat. Rev. Endocrinol.** 7, 163-175 (2011). (査読有) doi:10.1038/nrendo.2010.194

- ⑧ Suzuki, C., Miyamoto, C., Furuyashiki, T., Narumiya, S., Ohinata, K. Central PGE<sub>2</sub> exhibits anxiolytic-like activity via EP1 and EP4 receptors in a manner dependent on serotonin 5-HT<sub>1A</sub>, dopamine D<sub>1</sub> and GABA<sub>A</sub> receptors. **FEBS Lett.** 585, 2357-2362 (2011). (査読有) doi:10.1016/j.febslet.2011.06.004
- ⑨ Mitsumori, T.\*, Furuyashiki, T.\*, Momiyama, T., Nishi, A., Shuto, T., Hayakawa, T., Ushikubi, F., Kitaoka, S., Aoki, T., Inoue, H., Matsuoka, T., Narumiya, S. (\*equally contributed) Thromboxane receptor activation enhances striatal dopamine release, leading to suppression of GABAergic transmission and enhanced sugar intake. **Eur. J. Neurosci.** 34, 594-604 (2011). (査読有) DOI:10.1111/j.1460-9568-2011.07774.x
- ⑩ Thumkeo, D., Shinohara, R., Watanabe, K., Takebayashi, H., Toyoda, Y., Tohyama, K., Ishizaki, T., Furuyashiki, T., Narumiya, S. Deficiency of mDia, an actin nucleator, disrupts integrity of neuroepithelium and causes periventricular dysplasia. **PLoS One** 6, e25465 (2011). (査読有) doi:10.1371/journal.pone.0025465

[学会発表] (計 20 件)

- ① 古屋敷 智之「ストレス下での情動行動におけるプロスタグランジン E<sub>2</sub> を介したドパミン系制御の役割」第 85 回日本薬理学会年会, 2012 年 3 月 15 日, 京都国際会館 (京都府). 【学術奨励賞受賞講演, 招待講演】
- ② 古屋敷 智之, 他「マウス社会挫折ストレスによる中脳皮質ドパミン系抑制とミクログリア活性化:プロスタグランジン系の役割」第 85 回日本薬理学会年会, シンポジウム, 2012 年 3 月 15 日, 京都国際会館 (京都府).
- ③ 古屋敷 智之「ストレス脆弱性における前頭前皮質ドパミン系の役割とその制御機構」生理学研究所所内セミナー, 2012 年 2 月 29 日, 生理学研究所 (愛知県). 【招待講演】
- ④ 古屋敷 智之, 他「Prostaglandin E<sub>2</sub>-mediated desensitization of mesocortical dopamine neurons is critical for susceptibility to repeated

social defeat stress.」The 32nd Naito Conference on Biological basis of mental functions and disorders, 2011 年 10 月 18-21 日, ハヶ岳ロイヤルホテル (山梨県).

- ⑤ 廣中 直行, 大石 悠貴, 岡本 泰昌, 高橋 泰城, 野村 理朗, 古屋敷 智之「感情の最新生物学と精神疾患の理解(スタディセッション)」第 21 回日本臨床精神神経薬理学会・第 41 回日本神経精神薬理学会 合同年会, 2011 年 10 月 28 日, 京王プラザホテル (東京都). 【招待講演】
- ⑥ 古屋敷 智之, 他「反復社会挫折ストレスへの脆弱性におけるプロスタグランジン依存的な前頭前皮質ドパミン系脱感作の役割」第 54 回日本神経化学学会大会, シンポジウム, 2011 年 9 月 27 日, 山代温泉 (石川県).
- ⑦ 宮本 知京, 古屋敷 智之, 他「PGE<sub>2</sub> は EP1/EP4 受容体を介して抗不安作用を示す」第 84 回日本生化学会大会, 2011 年 9 月 23 日, 京都国際会館 (京都府).
- ⑧ 古屋敷 智之, 他「Prostaglandin E<sub>2</sub>-mediated desensitization of mesocortical dopamine neurons is critical for susceptibility to repeated social defeat」第 84 回日本生化学会大会, 2011 年 9 月 23 日, 京都国際会館 (京都府).
- ⑨ 篠原 亮太, 古屋敷 智之, 他「神経前駆細胞の移動における Rho 標的分子 mDia の役割」第 84 回日本生化学会大会, 2011 年 9 月 23 日, 京都国際会館 (京都府).
- ⑩ 豊田 洋輔, 古屋敷 智之, 他「Rho 依存的アクチン重合因子 mDia は ephrin による軸索成長円錐の退縮に重要である」第 84 回日本生化学会大会, 2011 年 9 月 23 日, 京都国際会館 (京都府).
- ⑪ 古屋敷 智之, 他「反復社会挫折ストレスにおけるプロスタグランジン E<sub>2</sub> 依存的な中脳皮質ドパミン系脱感作の役割」第 34 回日本神経科学学会大会, 2011 年 9 月 15 日, パシフィコ横浜 (神奈川県).
- ⑫ 篠原 亮太, 古屋敷 智之, 他「神経前駆細胞の移動における Rho 標的分子 mDia の役割」第 34 回日本神経科学学会大会, 2011 年 9 月 15 日, パシフィコ横浜 (神奈川県).
- ⑬ 田中 昂平, 古屋敷 智之, 他「Prostaglandin E 受容体 EP1 は社会挫折ストレスによる社会忌避行動とドパミン神経の可塑性に重要な役割を有する」第 34 回日本神経科学学会大会, 2011 年 9 月 15 日, パシフィコ横浜 (神奈川県).
- ⑭ 古屋敷 智之「Roles of prostaglandin E<sub>2</sub>, an inflammation-related molecule, in vulnerability to stress」神戸大学精神科セミナー, 2011 年 6 月 8 日, 神戸大学医

学部附属病院 (兵庫県). 【招待講演】

- ⑮ 古屋敷 智之, 他「Roles of prostaglandin E<sub>2</sub> in emotional behavior under acute and chronic stress」第 84 回日本薬理学会年会・The 11th Southeast Asian Western Pacific Regional Meeting of Pharmacologists, シンポジウム, 2011 年 3 月 23 日, パシフィコ横浜 (神奈川県).
- ⑯ 古屋敷 智之「情動行動における炎症関連分子プロスタグランジン E<sub>2</sub> の役割」東京大学医学系研究科講演, 2010 年 11 月 25 日, 東京大学医学系研究科 (東京都). 【招待講演】
- ⑰ 古屋敷 智之「社会行動の適応的選択におけるプロスタグランジン E<sub>2</sub> の役割」生理学研究所研究会「感覚刺激・薬物による快・不快情動生成機構とその破綻」, 2010 年 9 月 30 日, 生理学研究所 (愛知県). 【招待講演】
- ⑱ 古屋敷 智之, 他「Roles of prostaglandin E<sub>2</sub> and its receptor EP1 in adaptive selection of emotional behaviors.」第 20 回日本臨床精神神経薬理学会・第 41 回日本神経精神薬理学会 合同年会, 2010 年 9 月 17 日, 仙台国際センター (宮城県).
- ⑲ 古屋敷 智之, 他「Roles of prostaglandin E<sub>2</sub>, a proinflammatory mediator, in emotional and adaptation to stress」Neuro2010 (第 33 回日本神経化学大会、第 53 回日本神経化学会大会、第 20 回日本神経回路学会大会, シンポジウム), シンポジウム, 2010 年 9 月 4 日, 神戸コンベンションセンター (兵庫県).
- ⑳ 古屋敷 智之「ストレスによる抑うつにおける炎症関連分子の役割」第 17 回 PharmaScience フォーラム, 2010 年 5 月 14 日, 北海道大学薬学研究科 (北海道). 【招待講演】

[図書] (計 2 件)

- ① 古屋敷 智之, 成宮 周. 生命の科学 2010 年 10 月号 (増大号) 特集「シナプスをめぐるシグナリング」の「ドパミン系と区御分性シナプス可塑性におけるプロスタグランジン E<sub>2</sub> とその受容体の役割」の章, 総ページ数 4 頁 (医学書院).
- ② 平田 多佳子, 古屋敷 智之. 実験医学増刊 2010 年 Vol. 28-No. 20 「分子から個体へと進化する脂質生物学」の「プロスタノイドによる免疫系・神経系制御」の章, 総ページ数 9 頁 (羊土社).

6. 研究組織

- (1) 研究代表者  
古屋敷 智之 (FURUYASHIKI TOMOYUKI)  
京都大学・医学研究科・助教  
研究者番号: 20362478
- (2) 研究分担者  
該当なし
- (3) 連携研究者  
該当なし