

科学研究費助成事業(学術研究助成基金助成金)研究成果報告書

平成25年 6月11日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2012

課題番号：23790084

研究課題名(和文)

ストレス中枢(視床下部・室傍核)の制御に着目した新規抗うつシグナルの探索

研究課題名(英文)

The exploration of antidepressant effects in the hypothalamic nuclei

研究代表者

瀬木 恵里(SEGI ERI)

京都大学・大学院薬学研究科・特定准教授

研究者番号：70378628

研究成果の概要(和文)：

本研究では、視床下部における新規抗うつシグナルの探索を目的としている。

(1) ストレス中枢である室傍核で、抗うつ治療である電気けいれん刺激はコレシストキニン遺伝子の発現を抑制した。この抑制は抗ストレスに働くと予想される。

(2) 摂食制御中枢である腹内側核で、電気けいれん刺激は摂食抑制因子の発現を亢進した。実際に摂食抑制作用も認められ、その反応は腹内側核を介していた。本研究は抗うつ治療の代謝シグナルに対する新規調節機構を示した。

研究成果の概要(英文)：

The purpose of the study is to explore antidepressant effects of electroconvulsive seizures (ECS) in the hypothalamic nuclei. (1) ECS down-regulates gene expression of cholecystikinin, which is suggested as a modulator of the stress responses, in the paraventricular hypothalamus. (2) ECS up-regulates gene expression of anorexigenic factors in the ventromedial hypothalamus, and decreases food intake via ventromedial hypothalamus function. This study suggests a role in the regulation energy homeostasis by ECS.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・生物系薬学

キーワード：神経生物学・抗うつ治療・遺伝子発現・視床下部・摂食

1. 研究開始当初の背景

うつ病態においては、抑うつ感のみならず、ストレス反応の亢進や食欲・睡眠の変化など視床下部が制御している機能の変調も伴う。これまで抗うつ治療による海馬や前頭前野における神経機能の調節機構については多くの報告があるものの、視床下部における抗うつ治療の分子機序についてはほとんど知られていない。この理由として、視床下部には異なる機能を有する複数の神経核が存在するため、その各々についての解析が困難であることが挙げられる。我々はこれまで抗うつ

治療の中でも特に難治性うつに有効な電気けいれん療法に着目し、その動物モデルである電気けいれん刺激を用いてこの療法の分子メカニズムの解明を試みてきた。

2. 研究の目的

本研究では、視床下部における抗うつメカニズムを探ることを主な目的として、ストレス反応の制御中枢である視床下部・室傍核に着目して電気けいれん刺激による分子変化の同定を試みた。一方、本研究を行う中で、実験前には予想していなかった摂食に関わる

視床下部神経核（腹内側核）での抗うつ治療による新たな役割が示唆された。過食・肥満等の代謝変化は一部のうつ患者で認められているものの、抗うつ治療と代謝調節との関係についてはほとんど報告が無いことから、本研究においては視床下部・腹内側核での抗うつ治療による機能調節の同定も試みた。

3. 研究の方法

(1) ストレス中枢における電気けいれん刺激の効果と抗ストレス反応

ストレス中枢である視床下部・室傍核での抗うつシグナルを探索する目的で、マウス(C57BL/6)に抗うつ治療である電気けいれん刺激を行った後に、室傍核を単離し網羅的な遺伝子発現解析を行った。これらの発現変化を確認するために、定量的PCR法を用いて検討した。

(2) 電気けいれん刺激による新たな視床下部活性化部位の同定

電気けいれん刺激による視床下部神経核の活性化を検討するために、1回もしくは7回電気けいれん刺激を行った後に神経活性化マーカーであるc-fosタンパク発現を検討した。

(3) 視床下部神経核の単離による遺伝子発現解析

上記検討により同定された視床下部・腹内側核での電気けいれん刺激の効果を検討するために、脳切片からのマイクロディセクション法を用いて神経核を単離し、RNA抽出を行った。このRNAサンプルを用い、網羅的遺伝子解析発現をマイクロアレイ法を用いて検討し、電気けいれん刺激による遺伝子発現変化を同定した。この発現変化を定量的PCR法にて確認すると共に、in situ hybridization法を用いて発現部位・細胞の同定を試みた。また、タンパク発現変化は視床下部全体を単離してWestern Blot法にて確認した。

(4) 電気けいれん刺激の摂食行動への効果と視床下部の関与

電気けいれん刺激による行動変化を検討するために、摂食量と体重変化を測定した。また慢性的な代謝ストレスとして高脂肪食を摂取したマウスや遺伝的肥満マウスであるレプチン欠損マウスでも電気けいれん刺激の効果を検討した。摂食や体重変化に対する電気けいれん刺激の効果が視床下部神経核の働きに依存するかを検討するために、視床下部の腹内側核・弓状核に特異的な神経毒である金チオグルコースを投与したマウスを用いて電気けいれん刺激の効果調べた。

4. 研究成果

(1) 電気けいれん刺激による視床下部・室傍核での新規抗うつシグナルの探索

抗うつ治療である電気けいれん刺激を行った後に、室傍核を単離し網羅的な遺伝子発現解析を行った。その結果、単回・複数回の電気けいれん刺激により、fos遺伝子など神経活性化マーカーの発現亢進が認められた。一方、ストレスホルモンであるCRHやAVP遺伝子の発現は亢進しておらず、電気けいれん刺激によりストレス反応は亢進していないことが示唆された。一方、ストレス調節因子として知られるコレシストキニン、NPYや細胞内キナーゼであるPKC遺伝子については、単回・複数回の電気けいれん刺激により発現抑制が起こることを見いだした(図1)。コレシストキニンはストレスシグナルに対して促進的に作用することが知られており、コレシストキニン発現抑制は室傍核での抗ストレス作用の候補と考えられる。

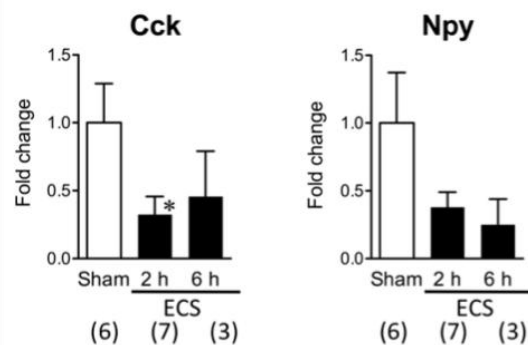


図1.室傍核での電気けいれん刺激(ECS)による遺伝子発現減少

(2) 電気けいれん刺激による視床下部での新たな機能の探索

① 電気けいれん刺激による視床下部神経核の活性化

1回もしくは7回電気けいれん刺激を行った後に、視床下部における神経活性化マーカーc-fosの発現を検討したところ、腹内側核が最も強く発現が誘導される部位であることを明らかにした。特に、7回電気けいれん刺激後は海馬歯状回ではその発現上昇がほとんど認められないのに対し、腹内側核では発現上昇が維持されており、腹内側核は繰り返し刺激に対する反応性が持続していることが示唆された(図2)。

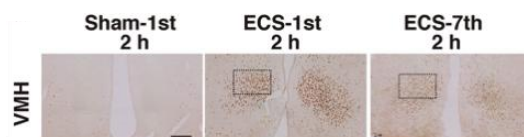


図2.腹内側核での電気けいれん刺激(ECS)による神経活性化(c-fos)

②視床下部・腹内側における電気けいれん刺激での摂食抑制因子の上昇

腹内側核での電気けいれん刺激での分子変化同定を試みるために、脳切片より当該部位を単離後 RNA 抽出を行ってマイクロアレイ法にて網羅的な発現変化を探索した。その結果、電気けいれん刺激により fos, jun 等の神経活性化マーカーの発現上昇が認められると共に、摂食抑制因子である脳由来神経栄養因子(BDNF)、神経ペプチド(PACAP)、ヒスタミンH1受容体、副腎皮質刺激ホルモン放出因子(CRH)2受容体等の発現が上昇していることを見いだした。この変化は定量的PCRでも確認でき、in situ hybridizationによりこれらの発現上昇は腹内側核に特異的であることを見出した(図3)。また7回の電気けいれん刺激後では視床下部でのBDNFタンパク質レベルの発現上昇が認められることを確認した。

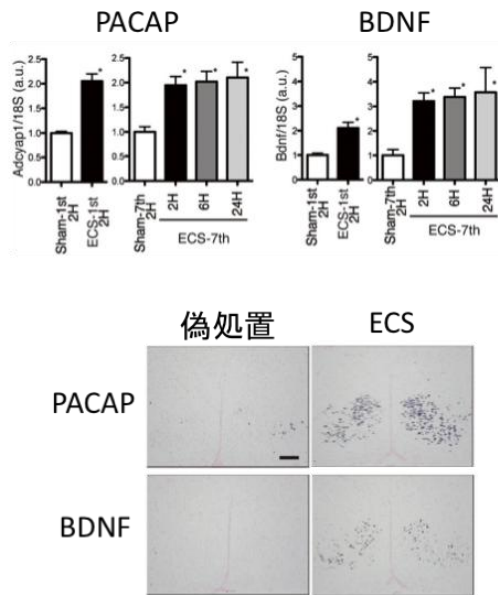


図3.電気けいれん刺激(ECS)による視床下部腹内側核での摂食抑制因子の発現上昇

③長期の電気けいれん刺激による摂食量・体重増加の抑制効果

腹内側核は摂食抑制中枢であること、また実際に電気けいれん刺激によりこの神経核で複数の摂食抑制因子発現上昇が認められたことから、電気けいれん刺激により摂食抑制効果が認められることが予想された。1回の電気けいれん刺激では摂食量の変化は認められなかったものの、10回の電気けいれん刺激を行うと摂食量の減少が認められ、同時に体重増加の抑制も認められた(図4)。このような摂食抑制効果は高脂肪食を摂食した

マウスや遺伝的肥満マウス(レプチン欠損マウス)に対しても認められた。

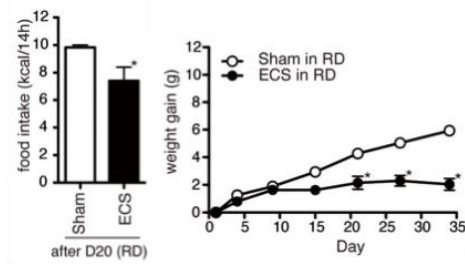


図4.電気けいれん刺激(ECS)の摂食量・体重増加への影響

④電気けいれん刺激による摂食量抑制に対する視床下部腹内側核の関与

このような摂食に対する電気けいれん刺激の効果が、視床下部の摂食中枢制御を介しているかについて検討するために、腹内側核に特異的な神経毒を投与して当該神経核を破壊したマウスを用いて検討を行った。このマウスでは上記で認められた電気けいれん刺激による摂食量・体重の減少は消失し、電気けいれん刺激の効果が腹内側核の活性化によるものであることが示された(図5)。

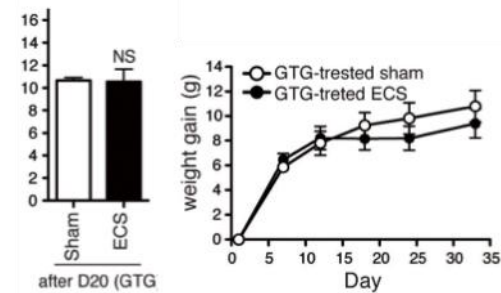


図5.腹内側核破壊マウスでの電気けいれん刺激の効果

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5件)

(1) Segi-Nishida E, Sukeno M, Imoto Y, Kira T, Sakaida M, Tsuchiya S, Sugimoto Y, Okuno Y, (2013) Electroconvulsive seizure activate anorexigenic signals in the ventromedial nuclei of the hypothalamus. *Neuropharmacology*, 71: 164-173. 査読有り

DOI: 10.1016/j.neuropharm.2013.03.033

(2) Tanaka K, Furuyashiki T, Kitaoka S, Senzai Y, Imoto Y, Segi-Nishida E, Deguchi Y, Breyer RM, Breyer MD, Narumiya S (2012) Prostaglandin

E2-mediated attenuation of mesocortical dopaminergic pathway is critical for susceptibility to repeated social defeat stress in mice. J Neurosci 32:4319-4329.査読有り
DOI: 10.1523/JNEUROSCI.5952-11.2012

(3)Segi-Nishida E (2011) Exploration of new molecular mechanisms for antidepressant actions of electroconvulsive seizure. Biol Pharm Bull 34:939-944.査読有り
DOI: 10.1248/bpb.34.939

(4)Inazumi T, Shirata N, Morimoto K, Takano H, Segi-Nishida E, Sugimoto Y (2011) Prostaglandin E-EP4 signaling suppresses adipocyte differentiation in mouse embryonic fibroblasts via an autocrine mechanism. J Lipid Res 52:1500-1508.査読有り
DOI: 10.1194/jlr.M013615

(5)瀬木(西田)恵里、うつ病の病態メカニズムの探求、ファルマシア、47巻、813-818、2011、査読有り
<http://farumashia.pharm.or.jp/mokuji/2011/47-09.html>

〔学会発表〕(計2件)

(1)Segi-Nishida E, Kira T, Sukeno M, The effect of electroconvulsive seizure on transcriptional changes in the mouse paraventricular nucleus of hypothalamus.
北米神経科学学会、ワシントン国際会議場・アメリカ、2011年11月13日

(2)瀬木(西田)恵里、吉良俊彦、助野真美子
Electroconvulsive seizures suppress food intake via activation of ventromedial nuclei of hypothalamus 第35回日本神経科学大会 名古屋国際会議場(愛知県)2012年9月21日

〔図書〕(計1件)

瀬木(西田)恵里：DNA マイクロアレイ解析による脂質メディエーターの機能研究(第1章12節)、遺伝子医学MOOK24号、最新生理活性脂質研究、(編者)青木淳賢、杉本幸彦、村上誠、2013、pp.99-104

〔産業財産権〕

○出願状況(計1件)

名称：ピペラジン誘導体およびその用途
発明者：京都大学：高須清誠、奥野恭史、瀬木恵里他6名
権利者：同上
種類：特許権
番号：特願2012-177572
出願年月日：2012年5月15日
国内外の別：国内

〔その他〕

ホームページ等

<http://pharminfo.pharm.kyoto-u.ac.jp/segi.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

瀬木 恵里 (SEGI ERI)

京都大学大学院薬学研究科 特定准教授
研究者番号：70378628

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし