

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 22 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24780286

研究課題名(和文) 情動の季節リズムを制御する光時空間的生体機構

研究課題名(英文) Spatiotemporal mechanisms regulating seasonal rhythms in affective states

研究代表者

安尾 しのぶ (YASUO, SHINOBU)

九州大学・(連合)農学研究科(研究院)・准教授

研究者番号：30574719

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円、(間接経費) 1,050,000円

研究成果の概要(和文)：動物は日長から季節を読み取り、ストレス反応や情動に季節変化を示す。ヒトでは冬季に抑うつを示す季節性感情障害が知られる。本研究では、短日条件で高うつ様行動を示すマウスにおいて、情動に深く関わる脳セロトニン神経系が末梢臓器代謝との連関により日長に調節される仕組みを明らかにした。さらに、高照度光による抗うつ様効果を確認し、その効果が概日時計調節アミノ酸により増強されることを見出した。以上より、日長変化に伴う生体反応を光や栄養により制御できる可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：Animals living in temperate zones alter their stress- and mood-related physiology to seasonal changes in the environment by using the photoperiod as a primary cue. In human, seasonal affective disorder (SAD) is marked by depression during specific seasons, generally winter. This study clarified that the brain serotonergic system is regulated by photoperiod through the network between brain and peripheral metabolisms, using a mouse strain that exhibits high depression-like behavior under short photoperiod. Additionally, this study identified the antidepressant-like effect of bright light treatment, which was potentiated by a functional amino acid that has modulatory roles of the circadian clock. These data suggest that photoperiod-induced changes in mood can be regulated by light and nutrition.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学、基礎獣医学・基礎畜産学

キーワード：光周性 情動 セロトニン 脳 マウス

1. 研究開始当初の背景

動物は日長から季節を読み取り、ストレス反応や情動に季節リズムを示す。ヒトでは冬季に抑うつや過眠、過食、炭水化物渴望などを示す季節性感情障害 (SAD、冬季うつ病) が知られる。情動の季節変化は代謝とも深く関連するため、畜産動物の成長や体組成にも影響を及ぼす重要な性質である。

これまで、情動関連機能に日長反応性を示す動物モデルが不足しており、情動の季節リズムを制御するメカニズムの研究が停滞していた。マウスやラットは周年繁殖であるため、季節リズムに関する研究には不適切と考えられてきたのである。研究者らは代替モデルとして、fat sand ratやNile grass ratなど、季節繁殖性を示す昼行性動物を提唱してきた。しかしながら、これらの動物種は入手性や遺伝的均一性に劣るため、より適切なモデル動物が望まれていた。

我々は最近、繁殖と情動は独立して日長に反応すると考え、様々なマウスやラット系統における情動関連行動の日長反応性を解析してきた。その結果、C57BL/6Jマウスのうつ様行動が日長に応じて変化することを突き止めた。これを突破口として、本研究では、動物における情動の季節リズムを制御するメカニズムを解明し、高照度光により人工制御することを試みた。

2. 研究の目的

(1) 日長が C57BL/6J マウスの情動関連行動や脳セロトニン (5-HT) 神経系に及ぼす影響を解明する。

(2) C57BL/6J マウスで見られた日長反応性が系統特異的であるか解析する。

(3) 脳 5-HT 合成と関連が深い血漿中アミノ酸量や糖耐性、スクロース嗜好性に及ぼす日長の影響を解明する。

(4) SAD の治療に用いられる高照度光の抗うつ様効果を検証する。高照度光の効果は概日時計の乱れと関与するため、概日時計調節アミノ酸である L-セリンにより高照度光の抗うつ様効果を増強できるか試みる。

3. 研究の方法

(1) 短日条件 (8 時間明期 16 時間暗期) あるいは長日条件 (16 時間明期 8 時間暗期) で C57BL/6J 雄マウスを 3 週間飼育した後、各条件の明期および暗期に自発運動量をオープンフィールド試験 (OFT) にて、不安様行動を高架式十字迷路試験 (EPMT) にて、うつ様行動を強制水泳試験 (FST) にて解析した。扁桃核と視床下部を採取して、5-HT 含量および 5-HT の主要代謝物である 5-hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA) 含量を測定した。

(2) C57BL/6J、CBA/N、ICR マウスを用いて、OFT、EPMT、FST により情動関連行動の日長反応性を比較した。

(3) 5-HT は必須アミノ酸であるトリプトファン (Trp) を前駆体として、主要 5-HT 細胞体が存在する縫線核で合成される。Trp は大分子中性アミノ酸 (LNAA) の一つであり、Trp の脳移行は血中の Trp/LNAA 比により制御される。また、Trp/LNAA 比は糖の摂取や代謝と関連する。そこで、短日条件あるいは長日条件で飼育した C57BL/6J マウスを用いて、縫線核の Trp 含量、血漿中 Trp/LNAA 比、糖耐性、スクロース嗜好性を解析した。

(4) 短日条件、長日条件、短日条件で高照度光を 1 日 1 時間照射する条件で C57BL/6J マウスを飼育し、うつ様行動を解析するとともに、扁桃核における 5-HT 含量を測定した。また L-セリンを高照度光の 15 分前に皮下投与し、情動関連行動の解析、および縫線核における 5-HT および c-Fos の免疫陽性細胞数を解析した。

4. 研究成果

(1) FST において、短日条件のマウスでは、長日条件のマウスに比べて、有意に高い無動時間 (うつ様行動) を示した (two-way ANOVA,  $p = 0.008$ , 図 1)。OFT による自発運動量に有意差は見られなかったが、EPMT において、不安様行動が短日条件で長日条件より高い傾向が見られた (two-way ANOVA,  $p = 0.074$ )。

次に、情動を制御する扁桃核と視床下部における 5-HT および 5-HIAA 含量を解析した。短日条件のマウスでは、長日条件のマウスに比べて、扁桃核における 5-HT 含量が有意に低い値を示した (two-way ANOVA,  $p < 0.0001$ , 図 2A)。逆に、5-HIAA 含量は短日条件でわずかに高い値であった (two-way ANOVA,  $p = 0.036$ , 図 2B)。一方、視床下部における 5-HT や 5-HIAA 含量には、日長の影響は見られなかった (図 2C, D)。

以上の結果から、C57BL/6J マウスを短日条件で飼育すると、うつ様行動の増加や脳 5-HT 含量の減少など、SAD 患者の病態と類似した反応性を示すことが解明された。

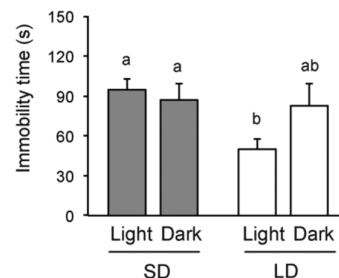


図 1. 日長が C57BL/6J マウスのうつ様行動 (FST における無動時間, immobility time) に及ぼす影響。SD, 短日条件; LD, 長日条件; Light, 明期; Dark, 暗期; 異符号間に有意差あり,  $p < 0.05$ , Bonferroni's multiple comparison test

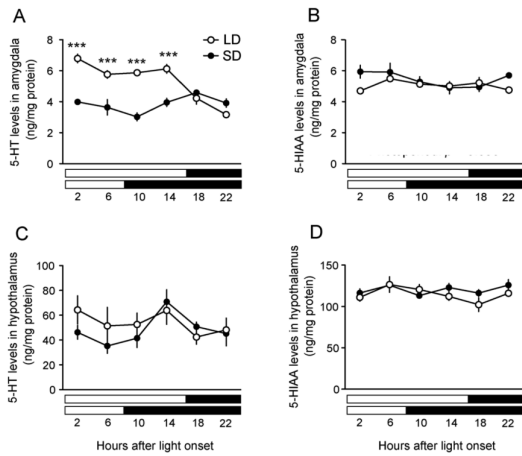


図 2. 日長が C57BL/6J マウスの扁桃体 (amygdala) および視床下部 (hypothalamus) における 5-HT・5-HIAA 含量に及ぼす影響。SD, 短日条件; LD, 長日条件; \*\*\* $p < 0.0001$ , Bonferroni's multiple comparison test

(2) C57BL/6J, CBA/N, および ICR マウスを用いて、FST における無動時間 (うつ様行動) の日長反応性を解析したところ、C57BL/6J マウスのみで有意な反応性が見られた (t-test,  $p < 0.05$ , 図 3)。OFT における自発運動量には、いずれの系統でも日長の影響は見られなかった。EPMT においては、C57BL/6J および CBA/N マウスで有意な日長反応性が見られ (C57BL/6J, t-test,  $p < 0.01$ ; CBA/N, t-test,  $p < 0.05$ )、どちらの系統においても、短日条件で長日条件に比べて強い不安様行動を示していた。

これらの結果は、うつ様行動の日長反応性が C57BL/6J マウスに特異的であることを示す。

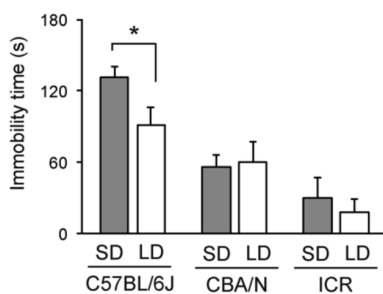


図 3. 日長が C57BL/6J, CBA/N, ICR マウスにおけるうつ様行動 (FST における無動時間, immobility time) に及ぼす影響。SD, 短日条件; LD, 長日条件; \* $p < 0.05$ , t-test

(3) C57BL/6J マウスを用いて、5-HT の前駆体である Trp 含量を縫線核で解析したところ、短日条件では長日条件より有意に低い含量であった (two-way ANOVA,  $p = 0.005$ , 図 4)。また、Trp の脳移行率を決める Trp/LNAA 比についても、短日条件では長日条件に比べて低い値であった (two-way ANOVA,  $p = 0.005$ ,

図 4)。Trp/LNAA 比は骨格筋代謝等の末梢代謝で制御されることから、日長が末梢代謝を介して Trp の脳移行量に影響する可能性が考えられた。

Trp/LNAA 比および骨格筋代謝は糖恒常性と深く関与するため、日長が糖耐性に及ぼす影響を解析した。その結果、短日条件におけるマウスでは、長日条件のマウスに比べて糖耐性が低下していた (two-way ANOVA,  $p < 0.0001$ , 図 5)。一方、グルコース負荷に対するインスリン分泌反応も短日条件で増加していたことから (two-way ANOVA,  $p = 0.0002$ , 図 5)、短日条件のマウスはインスリン抵抗性を持つと示唆される。

SAD の代表的な病態である炭水化物渴望が短日条件のマウスで見られるか検証するため、日長がスクロース嗜好性に及ぼす影響を解析した。その結果、短日条件のマウスは長日条件のマウスに比べて、強いスクロース嗜好性を時刻依存的に示していた (two-way ANOVA,  $p = 0.0009$ )。

以上の結果から、うつ様行動や脳セロトニン含量の日長反応性は、血漿 Trp/LNAA 比や糖耐性、炭水化物摂取など、末梢代謝関連の指標と深く関与することが示唆された。

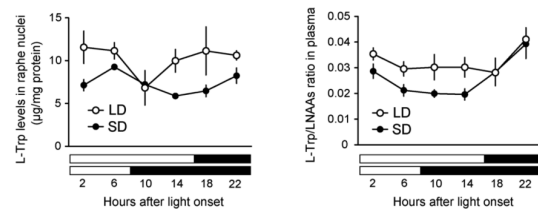


図 4. 日長が C57BL/6J マウスの縫線核 (raphe nuclei) における Trp 含量および血漿中 Trp/LNAA 比に及ぼす影響。SD, 短日条件; LD, 長日条件

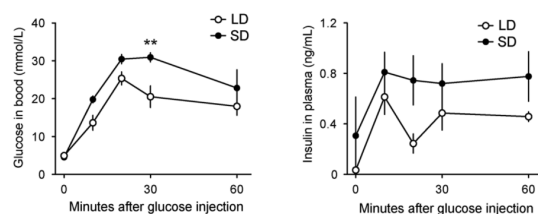


図 5. 日長が C57BL/6J マウスの糖耐性に及ぼす影響。グルコース負荷後の血中グルコースおよび血漿インスリン量を示す。SD, 短日条件; LD, 長日条件; \*\* $p < 0.01$ , Bonferroni's multiple comparison test

(4) 短日条件で高照度光を照射すると、FST における無動時間が有意に抑制され、抗うつ様効果が確認された (two-way ANOVA,  $p < 0.0001$ , 図 6)。一方、扁桃体における 5-HT 含量には、高照度光の影響は見られなかった。

次に、概日時計調節アミノ酸である L-セリンを高照度光前に投与した結果、高照度光による抗うつ様効果が増強された (one-way

ANOVA,  $p = 0.0002$ , 図 7)。さらに、縫線核の幾つかの小領域における 5-HT の免疫陽性細胞数や神経活性 (5-HT と c-Fos の共局在細胞数) が高照度光により増加すること、その増加が L-セリン投与により強められることを見出した。

これらの結果から、SAD の治療に有効である高照度光が C57BL/6J マウスでも抗うつ様効果を持つこと、またその作用機序には縫線核における 5-HT 神経活性が関与することが示唆された。

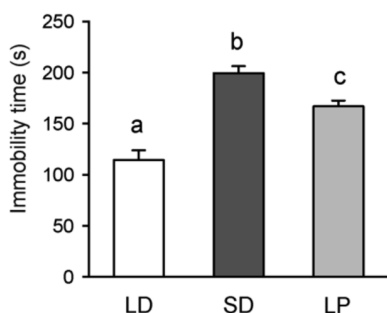


図 6. 日長および高照度光が C57BL/6J マウスのうつ様行動 (FST における無動時間, immobility time) に及ぼす影響。SD, 短日条件; LD, 長日条件; LP, 短日で高照度光を 1 日 1 時間照射した条件; 異符号間に有意差あり,  $p < 0.05$ , Bonferroni's multiple comparison test

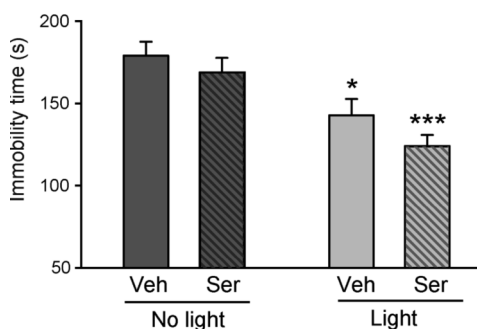


図 7. L-セリンによる高照度光の抗うつ様効果の増強。Veh, vehicle; Ser, L-セリン; No light, 光無照射群; Light, 光照射群; \* $p < 0.05$ , \*\*\* $p < 0.001$ , one-way ANOVA followed by Dunnett multiple comparison test

## 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 Otsuka T, Kawai M, Togo Y, Goda R, Kawase T, Matsuo H, Iwamoto A, Nagasawa M, Furuse M, Yasuo S. Photoperiodic responses of depression-like behavior, the brain serotonergic system, and peripheral metabolism in laboratory mice. *Psychoneuroendocrinology* 40: 37-47, 2014, 査読有

10.1016/j.psyneuen.2013.10.013

- ② Iwamoto A, Kawai M, Furuse M, Yasuo S. Effects of chronic jet lag on the central and peripheral circadian clocks in CBA/N mice. *Chronobiol Int* 31: 189-198, 2014, 査読有 10.3109/07420528.2013.837478
- ③ Yasuo S, Fischer C, Bojunga J, Iigo M, Korf HW. 2-Arachidonoyl glycerol sensitizes the pars distalis and enhances forskolin-stimulated prolactin secretion in Syrian hamsters. *Chronobiol Int* 31: 337-342, 2014, 査読有 10.3109/07420528.2013.852104
- ④ Goto M, Matsuo H, Iigo M, Furuse M, Korf HW, Yasuo S. Melatonin-induced changes in the expression of thyroid hormone-converting enzymes in hypothalamus depend on the timing of melatonin injections and genetic background in mice. *Gen Com Endocrinol* 186: 33-40, 2013, 査読有 10.1016/j.ygcen.2013.02.028
- ⑤ Otsuka T, Goto M, Kawai M, Togo Y, Sato K, Katoh K, Furuse M, Yasuo S. Photoperiod regulates corticosterone rhythms by altered adrenal sensitivity via melatonin-independent mechanisms in Fischer 344 rats and C57BL/6J mice. *PLoS One*, 7:e39090, 2012, 査読有 10.1371/journal.pone.0039090
- ⑥ Togo Y, Otsuka T, Goto M, Furuse M, Yasuo S. Photoperiod regulates dietary preferences and energy metabolism in young developing Fischer 344 rats but not in same-age Wistar rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 303: E777-786, 2012, 査読有 10.1152/ajpendo.00209.2012

[学会発表] (計 20 件)

- ① 河井美里、大塚剛司、山崎いづみ、古瀬充宏、安尾しのぶ. 高照度光および L-セリンが短日条件におけるマウスのうつ様行動に及ぼす影響. 第 20 回日本時間生物学会学術大会、2013 年 11 月 9 日、近畿大学
- ② 岩本綾香、古瀬充宏、山崎いづみ、安尾しのぶ. 概日時計を調節できるアミノ酸の探索: L-セリンによる光応答性の増強. 第 20 回日本時間生物学会学術大会、2013 年 11 月 9 日、近畿大学

- ③ Otsuka T, Iwamoto A, Kawai M, Kawase T, Goda R, Furuse M, Yasuo S. Effects of photoperiod on depression-like behaviors, brain serotonergic system, and glucose tolerance in mice. 12th Congress of the European Biological Rhythms Society, Aug 2013, Munich, Germany
- ④ Yasuo S, Otsuka T, Kawai M, Furuse M. Photoperiodic responses of the brain serotonergic system and mood-related behaviors in mammals. 12th Congress of the European Biological Rhythms Society, Aug 2013, Munich, Germany
- ⑤ Yasuo S. Pathophysiological analysis of seasonal affective disorder using an animal model: photoperiodic regulation in serotonergic system and metabolism. Neuro2013, Jun 2013, Kyoto International Conference Center, Kyoto
- ⑥ 安尾しのぶ. モデル動物を用いた冬季うつ病の病態解析と治療に向けた試み. 第86回日本薬理学会年、2013年3月21日、福岡国際会議場
- ⑦ 安尾しのぶ、大塚剛司、河井美里. 季節性感情障害のモデル動物についての可能性を探る. 第19回日本時間生物学会学術大会、2012年9月15日、北海道大学
- ⑧ 大塚剛司、松尾陽香、岩本綾香、河井美里、五田亮世、古瀬充宏、安尾しのぶ、日長と照度の組み合わせがマウスの情動行動および糖代謝に及ぼす影響. 第19回日本時間生物学会学術大会、2012年9月15日、北海道大学
- ⑨ 安尾しのぶ. 季節の生体リズムと食. 睡眠学会第37回学術集会、2012年6月28日、パシフィコ横浜

〔産業財産権〕

○出願状況 (計2件)

名称：冬季うつ病の改善剤  
 発明者：山崎いづみ、安尾しのぶ  
 権利者：同上  
 種類：特許  
 番号：特願 2014-009286  
 出願年月日：2014年1月22日  
 国内外の別： 国内

名称：メラトニン分泌調節剤  
 発明者：安尾しのぶ、菱田幸宏、秋月さおり、根橋麻美、上村彩子  
 権利者：同上  
 種類：特許

番号：特願 2014-72675

出願年月日：2014年3月31日

国内外の別： 国内

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.agr.kyushu-u.ac.jp/lab/lrmb>

6. 研究組織

(1)研究代表者

安尾 しのぶ (YASUO, Shinobu)

九州大学・大学院農学研究院・准教授

研究者番号：30574719