

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 22 日現在

機関番号：12501

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25670510

研究課題名(和文)炎症反応によるうつ病発症の分子機構解明に関する研究

研究課題名(英文)Molecular mechanism of inflammation-induced depression

研究代表者

橋本 謙二 (HASHIMOTO, KENJI)

千葉大学・社会精神保健教育研究センター・教授

研究者番号：10189483

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：煙草の成分であるニコチンが結合する受容体の一つである、 $\alpha$ 7ニコチン受容体は、炎症に関わっていることが知られているが、うつ病との関連は判っていない。今回、 $\alpha$ 7ニコチン受容体遺伝子欠損マウスを用いて、うつ病の病態における $\alpha$ 7ニコチン受容体の役割を調べた。今回、 $\alpha$ 7ニコチン受容体遺伝子欠損マウスはうつ症状を呈することが判った。さらに、脳由来神経栄養因子(BDNF)が側坐核において有意に増加しているが、他の部位では差が無かった。この知見は、側坐核におけるBDNFの増加が、 $\alpha$ 7ニコチン受容体遺伝子欠損マウスのうつ症状の病態に関与していることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Although  $\alpha$ -7 nicotinic acetylcholine receptor (nAChR), a subtype of nicotine receptors, plays a role in the inflammation, the role of  $\alpha$ -7 nAChR in depression has been unknown. In this study, we examined the role of  $\alpha$ -7 nAChR in depression using  $\alpha$ -7 nAChR KO mice. We found that  $\alpha$ -7 nAChR KO mice show depression-like phenotype, including anhedonia. We also found an increase of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in the nucleus accumbens, but not other regions (prefrontal cortex and hippocampus). Furthermore, TrkB antagonist ANA-12, but not TrkB agonist 7,8-DHF, showed antidepressant-like effects in  $\alpha$ -7 nAChR KO mice. These findings suggest that increased BDNF-TRKB signaling in the nucleus accumbens, but not other brain regions, plays a key role in depression-like behavior in  $\alpha$ -7 nAChR KO mice.

研究分野：精神医学

キーワード：脳神経疾患 炎症 うつ病 ニコチン受容体 脳由来神経栄養因子

## 1. 研究開始当初の背景

近年、うつ病の患者数は増加しており、またうつ病は自殺の原因の一つでもあり、大きな社会問題になっている。現在、治療薬として抗うつ薬が幅広く使用されているが、現在の抗うつ薬で奏功しない治療抵抗性患者が存在することから、早急にうつ病の病態の解明を進め、新規治療薬の開発を進める必要がある。

一方、ニコチン受容体の  $\alpha 7$  サブタイプは、海馬、大脳皮質などの多くの脳部位に存在し、中枢神経系で重要な役割をはたし手織り、精神神経疾患の新しい治療ターゲットとして期待されている。

近年、炎症がうつ病の病態に関わっているという知見が数多く発表されてきている。例えば、うつ病患者では、血液中の炎症性サイトカインが変動しており、抗うつ薬投与が血液中サイトカイン量に影響を与えることが報告されている。一方、2003年に  $\alpha 7$  ニコチン受容体が、リポポリサッカロイド (LPS) 投与による炎症に重要な役割を果たしていることが報告された。このように LPS 投与による炎症性うつ病症状は、うつ病のモデルとして使用されている。

## 2. 研究の目的

ニコチン受容体は、うつ病の病態に関与している事が示唆されているが、未だ詳細なメカニズムは明らかでない。本研究では、 $\alpha 7$  ニコチン受容体遺伝子欠損マウスを用いて、炎症性うつ症状における  $\alpha 7$  ニコチン受容体の役割を明らかにすることを目的とする。

## 3. 研究の方法

$\alpha 7$  ニコチン受容体遺伝子欠損マウスは、米国ジャクソン研究所から購入し、千葉大学実験動物施設で飼育・繁殖した。また本研究は、千葉大学の実験動物倫理委員会で承認された後、実施した。

まず、野生型マウス群および遺伝子欠損マウス群(ヘテロ、ホモ)の3群に分けて、自発運動量、尾懸垂試験、強制水泳試験、ショ糖飲水試験を実施した。次に、野生型マウス群および遺伝子欠損マウス群(ヘテロ)に選択的な  $\alpha 7$  ニコチン受容体アゴニスト SSR180711 を投与して、行動評価を行った。

さらに、野生型マウス群および遺伝子欠損マウス(ホモ)群の血液および脳を取り出し、前頭皮質、海馬(CA1,CA3, 歯状回)、側坐核に分割し、ウェスタンブロット法にて、脳由来神経栄養因子(BDNF)、前駆体 proBDNFの量を測定した。また、BDNFの受容体である TrkB およびリン酸化 TrkB についても測定した。

血液中の炎症性サイトカイン(腫瘍壊死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) およびインターロイキン-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ )) を Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) で測定した。

## 4. 研究成果

$\alpha$  ニコチン受容体遺伝子欠損マウスの血清中の TNF- $\alpha$  および IL-1 $\beta$  濃度は、野生型と比較して有意に高かった。一方、インターロイキン 6 (IL-6) は変化していなかった。これらの事から、 $\alpha$  ニコチン受容体遺伝子欠損マウスは炎症を引き起こしている事が示唆された。

$\alpha 7$  ニコチン受容体遺伝子欠損マウス(ヘテロ、ホモ)では、自発運動量は野生型マウスと同等であったが、尾懸垂試験および強制水泳試験においては、 $\alpha 7$  ニコチン受容体遺伝子欠損マウス(ヘテロ、ホモ)は、野生型マウスと比較して、無動時間が有意に長く、うつ症状を呈した。またショ糖飲水試験において、 $\alpha 7$  ニコチン受容体遺伝子欠損マウス(ヘテロ、ホモ)は、ショ糖の飲水量の低下を示し、アンヘドニア症状を呈した(図 1)。

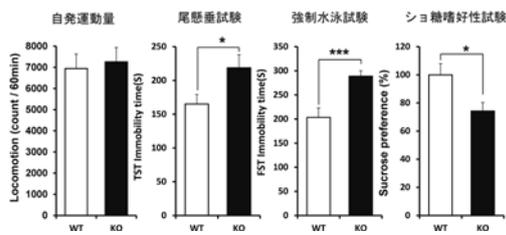


図 1.  $\alpha 7$  ニコチン受容体遺伝子欠損マウスのうつ症状

興味深いことに、選択的な  $\alpha 7$  ニコチン受容体アゴニスト SSR180711 の投与は、尾懸垂試験および強制水泳試験における  $\alpha 7$  ニコチン受容体遺伝子欠損マウス（ヘテロ）の無動時間を有意に低下させ、抗うつ作用を示した。

ウェスタンブロット法にて脳内における BDNF および前駆体 proBDNF 量を測定したところ、 $\alpha 7$  ニコチン受容体遺伝子欠損マウスの側坐核における BDNF 量は、野生型と比較して有意に高く、proBDNF は有意に低いことが判った。しかしながら、他の部位（前頭皮質、海馬）では両群では差が無かった。

興味深いことに、TrkB 受容体の拮抗薬 ANA-12 の投与は、BDNF および proBDNF の量には影響を与えなかったが、抗うつ作用を示した。他方、TrkB 受容体の作動薬 7,8-dihydroxyflavone (DHF) の投与は、抗うつ効果を示さなかった。興味深いことに、TrkB 受容体のリン酸化は、遺伝子欠損マウスの側坐核で増加しているが、ANA-12 の投与で有意に減少した。

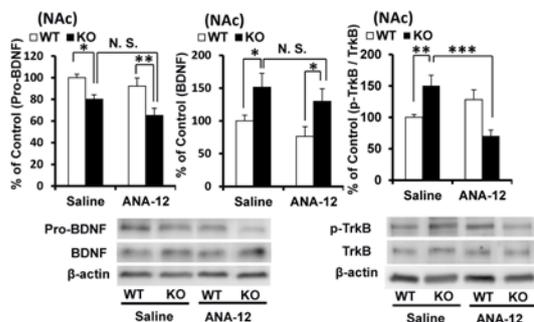


図 2. 側坐核における BDNF, proBDNF, TrkB, p-TrkB のウェスタンブロット解析

本研究の結果より、 $\alpha 7$  ニコチン受容体遺伝子欠損マウス（ヘテロ、ホモ）がうつ症状を引き起こすことを見出した。また  $\alpha 7$  ニコチン受容体遺伝

子欠損マウス（ヘテロ）のうつ症状は、選択的な  $\alpha 7$  ニコチン受容体アゴニスト SSR18011 の投与によって改善する事が判った。さらに、 $\alpha 7$  ニコチン受容体遺伝子欠損マウスの側坐核では、BDNF が高い事、さらには TrkB 受容体のリン酸化の亢進を見出した。既報から、炎症性うつ病モデルにおいても、側坐核における BDNF の量が増加していることから、 $\alpha 7$  ニコチン受容体遺伝子欠損による側坐核における BDNF-TrkB 系の亢進が、うつ症状を引き起こしている可能性が示唆された。

これらの知見は、 $\alpha 7$  ニコチン受容体がうつ病の病態に関わっている可能性を示唆しており、さらに  $\alpha 7$  ニコチン受容体アゴニストが、うつ病の新しい治療薬になる可能性が示唆された。また、TrkB 受容体の拮抗薬が、側坐核の BDNF-TrkB 系が亢進してうつ症状を呈している患者には適していることが示唆された。

## 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 1 件）

1. Hashimoto K. Targeting of  $\alpha 7$  nicotinic acetylcholine receptor in the treatment of schizophrenia and the use of auditory sensory gating as a translational biomarker. *Curr. Pharm. Des.* in press, 2015. 査読有

〔学会発表〕（計 1 件）

1. Hashimoto, K. Role of alpha-7 nAChRs in inflammation, and psychiatric diseases. In Symposium “Alpha-7 nicotinic receptor and its partial duplication as therapeutic targets for neuropsychiatric diseases”. The 11<sup>th</sup> World Congress of Biological Psychiatry, 国立京都国際会館（京都市）, Japan. June 23 -27, 2013.

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.m.chiba-u.ac.jp/class/shakai/jp/byoutai/index.html>

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

橋本 謙二 (HASHIMOTO, Kenji)

千葉大学・社会精神保健教育研究センター・教授

研究者番号：10189483

### (2)研究分担者

無し

### (3)連携研究者

無し

### (4)研究協力者

張 継春 (ZHANG, Ji-chun)

千葉大学・社会精神保健教育研究センター・特任助教

研究者番号：00733320