

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 16 日現在

機関番号：32713

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25670518

研究課題名(和文) 双極性障害の時計遺伝子のサーカディアンリズムを中心としたバイオマーカーの特定

研究課題名(英文) The identification of biomarker for the circadian rhythm of clock gene of the bipolar disorder

研究代表者

芳賀 俊明 (Haga, Toshiaki)

聖マリアンナ医科大学・医学部・研究技術員

研究者番号：80535625

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：睡眠-覚醒サイクルなどのサーカディアンリズムの異常によっておこる精神疾患はいくつも報告されている。中でも核となる時計遺伝子は重要とされており、マウスの中樞神経系である視床下部と海馬、末梢組織である顎下腺から時計遺伝子のmRNA発現量を測定した。

視床下部、海馬、顎下腺すべてに時計遺伝子は発現しており、24時間周期でサーカディアンリズムを形成していることが解った。さらに、リズムの振幅は中枢神経系よりも末梢組織でより大きくみられた。

研究成果の概要(英文)：Mental disorder caused by abnormality of the circadian rhythm of sleep-wake cycles has a many report. Above all, clock gene is important. We measured the mRNA expression of the clock gene from the hypothalamus and hippocampus which are central nervous system, and the submandibular gland which was a peripheral tissue. The clock gene developed in hypothalamus, hippocampus and submandibular glands and was found to form circadian rhythm in a period for 24 hours. Furthermore, the amplitude of the rhythm was more widely found in a peripheral tissue than central nervous system.

研究分野：神経科学

キーワード：時計遺伝子

1. 研究開始当初の背景

(1) 睡眠-覚醒サイクルにおける障害は、精神疾患でよく認められる特徴である。大うつ病、躁うつ病、季節性うつ病などの気分(感情)障害には、気分の日内変動、REM潜時の短縮などサーカディアンリズムに関連した症状がある。

(2) 現在、時計遺伝子は Clock、Bmal1、Per、Cry、Nr1d1 遺伝子などがあり、遺伝子発現の活性、または抑制を行うことでサーカディアンリズムを構成する遺伝子、タンパク質が明らかになってきた。さらに、双極性障害にて遺伝子多型に報告があった時計遺伝子は、ARNTL、PER3、TIMELESS、NR1D1、CLOCK である。特に CLOCK が双極性障害との相関があるとの報告があり、また、エピジェネティクスに参与している HAT の活性を調節し、ヒストンのアセチル化を調節することで、DNA 結合性が亢進し、転写が促進されることが報告されている。

2. 研究の目的

現在まで技術的問題にて、双極性障害は時計遺伝子の多型解析の研究しか出来なかった。しかし、今回我々は、唾液による時計遺伝子のサーカディアンリズムの測定に成功した。末梢での時計遺伝子のサーカディアンリズムを測定することが可能となり、疾患との関連性について検討が可能となった。まず始めに、マウスでの中枢神経と末梢組織の時計遺伝子の関連性を検討し、さらにストレスを与えたうつ病モデルマウスでどのように変化するのかを目的とする。

3. 研究の方法

(1) マウスの脳から視床下部と海馬、末梢組織では顎下腺を摘出し、RNA を抽出する。抽出した total RNA を cDNA に逆転写を行い、得られたサンプルを real-time PCR で発現量を解析する。

(2) 通常 12h:12h の明暗周期を 3.5h:3.5h の明暗周期に変更し 4 週間継続する。うつ病の指標としてスクロース嗜好試験を行い

確認する。

4. 研究成果

Zeitgeber time 2 (ZT2)、ZT6、ZT10、ZT14、ZT18、ZT22 でマウスの中枢神経系である視床下部と海馬、末梢組織である顎下腺から total RNA を抽出した。今回調査した時計遺伝子は、Clock、Bmal1、Per1、Per2、Cry1、Cry2、Nr1d1 である。

(1) マウスの視床下部、海馬の時計遺伝子群は今回選択したすべての遺伝子を発現しており、さらに 24 時間周期のサーカディアンリズムを形成していることが解った。

(2) そこで、中枢神経系と同じく末梢組織である顎下腺でも時計遺伝子を発現しているのか測定を行った結果、顎下腺にも中枢神経系と同様に時計遺伝子を発現しており、さらにサーカディアンリズムを形成していることが解った。

(3) マウスの視床下部、海馬、顎下腺の時計遺伝子のサーカディアンリズムを比較検討した。中枢神経系の視床下部、海馬のサーカディアンリズムの振幅(最低値から最高値の倍率)は 1.5~2 に対し、末梢組織の顎下腺のサーカディアンリズムの振幅は著しく高くなり、特に Bmal1、Nr1d1、Per2 では 50~100 の値を示した。

(4) 3.5 時間明暗周期環境下で育てたマウスはスクロース嗜好試験でコントロールマウスと比較して有意に差が見られた。また、時計遺伝子の発現では、いくつかの遺伝子で振幅が減少していることが確認された。

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 4 件)

渡邊高志、長田賢一、芳賀俊明、武藤亜矢、小川百合子、田口篤、浅利翔平、中野三穂、貴家康男、山口登。アリピプラゾールの長期投与によるジゴキシンの血中/脳内濃度の変化。聖マリアンナ医科大学雑誌。42(4):223-231。2015 (査読有)

長田賢一、渡邊高志、田口篤、芳賀俊明、武

藤 亜矢, 牛谷真由美, 柳田拓洋, 中野三穂, 貴家康男, 山口登. 抗不安薬の適切な使用方法. Modern Physician. 34(6):719-723. 2014 (査読無)

長田賢一, 渡邊高志, 田口篤, 小川百合子, 芳賀俊明, 武藤亜矢, 中野三穂, 柳田拓洋, 貴家康男, 山口登. 線維筋痛症の概念と治療. 臨床精神医学. 42(6):773-778. 2013 (査読無)

長田賢一, 渡邊高志, 田口篤, 小川百合子, 芳賀俊明, 武藤亜矢, 牛谷真由美, 中野三穂, 柳田拓洋, 貴家康男, 山口登. 線維筋痛症のメンタルケア. 関節外科. 32(12):52-55. 2013 (査読無)

〔学会発表〕(計 3 件)

A. Taguchi, K. Osada, T. Haga, A. Muto, M. Nakano, et. al. The investigation of the drug transporter regulated milnacipran in hippocampal neuronal in vitro system of HT22 cells. Neuroscience2014, 2014年11月 Washington, D.C. (USA)

A. Mutou, K. Osada, T. Haga, T. Watanabe, A. M. Nakano, et. al. The Investigation for the rhythm of GABA in the mouse SCN. Neuroscience 2014, 2014年11月 Washington, D.C. (USA)

T. Watanabe, K. Osada, T. Haga, M. Nakano, et.al. The association between atypical antipsychotic drugs with P-glycoprotein in the mice brain. Neuroscience 2014, 2014年11月 Washington, D.C. (USA)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

芳賀 俊明 (HAGA, Toshiaki)
聖マリアンナ医科大学・医学部・研究技術員
研究者番号: 80535625

(2) 研究分担者

長田 賢一 (OSADA, Kenichi)
聖マリアンナ医科大学・医学部・准教授
研究者番号: 20233504

朝倉 幹生 (ASAKURA, Mikio)
聖マリアンナ医科大学・医学部・教授
研究者番号: 70103504

貴家 康男 (SASUGA, Yasuo)
聖マリアンナ医科大学・医学部・講師
研究者番号: 60308450

中野 三穂 (NAKANO, Miho)
聖マリアンナ医科大学・医学部・助教
研究者番号: 90621574

(3) 連携研究者

松井 宏晃 (MATSUI, Hiroaki)
聖マリアンナ医科大学・医学部・教授
研究者番号: 90181685