

平成 31 年 4 月 10 日現在

機関番号：34306

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K08284

研究課題名(和文)うつ病におけるP2X7受容体及び亜鉛を介したシグナリングの協調的連関の変動

研究課題名(英文)Alteration of harmonized relationship between P2X7 receptor- and zinc-mediated signaling in depressive disease

研究代表者

長澤 一樹 (Nagasawa, Kazuki)

京都薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：30228001

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、うつ病の発症に重要な役割を担うアストロサイトの機能が、ATP受容体であるP2X7受容体及び亜鉛シグナリングによって制御されるか否かについて検討し、さらにうつ病モデルマウスにおける味覚異常について解析した。その結果、うつ病発症の一因である酸化ストレスの負荷によるアストロサイトの機能変動が、亜鉛シグナリングの変動に起因したP2X7受容体の機能的発現の減少に起因すること、うつ病モデルマウスの甘味感受性低下は舌有郭乳頭における甘味受容体発現量の増大によること、さらにこれらマウスでの腸内細菌叢が変化することを16Sメタゲノム解析法により明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究課題の遂行によって、うつ病モデルマウスにおける亜鉛・P2X7受容体を介したアストロサイトの機能変動機構及び味覚異常分子機構を解明すると共に、脳-腸連関不全における腸内細菌叢役割を解明するための研究基盤が形成できた。これら成果は、うつ病に対する革新的治療法開発のための分子基盤の構築に加えて、味覚障害に起因した栄養素バランスの破綻及び腸内細菌叢の変動の是正が、こころの健康の維持・増進に繋がるという“食育”に繋がる重要な科学的根拠を提示できることから、極めて大きな社会貢献が期待される。

研究成果の概要(英文)：In this research project, we examined whether alteration of astrocyte functionality which plays important roles in development of depressive disease was resulted from altered signaling mediated by P2X7 receptor, an ATP receptor, and zinc, and mechanism underlying taste disorder developed in depression-model mice. We have demonstrated that oxidative stress, a causative factor for depressive disease, -induced astrocyte functionality was due, at least in part, to decreased functional expression induced by alteration in intracellular zinc signaling. In addition, it appears that decreased sweet taste sensitivity in depression model mice is caused by increased expression of sweet taste receptors in circumvallate papillae in their taste buds, and 16S rRNA metagenome analyses reveal compositional change in their gut flora.

研究分野：神経化学

キーワード：P2X7受容体 アストロサイト 酸化ストレス 亜鉛 うつ病

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

うつ病などの精神神経疾患は「五大疾病」の一つであり、画期的治療法の開発が望まれている。神経伝達物質の一つである ATP はアストロサイトからもグリオ伝達物質として ATP 受容体の一つである P2X7 受容体などを介して放出され、その低下がうつ病発症の引き金となること、さらに SNPs などによる P2X7 受容体の機能低下がうつ病発症の一因であることが報告された。

亜鉛、特にその欠乏はうつ病の発症において中心的役割を担うとされているが、その詳細は不明である。これまでに、アストロサイトが亜鉛クリアランスを介して神経-グリア機能連関に重要な役割を担うことが示されているが、そのうつ病発症との関連は明らかではない。

遺伝的素因に因らないうつ病の発症への酸化ストレスの関与が指摘されている。申請者らは、酸化ストレス負荷されたアストロサイトにおいて、細胞内遊離型亜鉛レベルが上昇し、これが P2X7 受容体及びその splice variants の発現プロファイルを変化させ、P2X7 受容体の機能的発現を低下させることを見出した。さらに、大脳皮質アストロサイトにおける酸化ストレスの抑制がマウスのうつ様行動を改善することを示した Higashi らのうつ病モデルマウスにおいて、大脳皮質での P2X7 受容体及びその splice variants の発現プロファイルがアストロサイト培養系の場合と同様に変化することを認めた。

以上のような背景を基に申請者は、アストロサイトにおける ATP - P2X7 受容体及び亜鉛を介したシグナリングの協調的連関の変動がうつ病の発症において中心的な役割を担うという新たな仮説を提唱するに至った。

2. 研究の目的

当該研究課題では、うつ病に対する新たな治療戦略を開発することを目的に、酸化ストレス負荷されたアストロサイトにおける ATP - P2X7 受容体の機能的発現変動とその亜鉛による制御分子機構を *in vitro* 及び *in vivo* 実験を通して解明する。

3. 研究の方法

In vitro 実験:アストロサイト初代培養系を用いて、酸化ストレス負荷による P2X7 受容体、亜鉛トランスポータ (ZIP 及び ZnT)、メタロチオネインなどの活性及び発現、細胞内外の遊離型亜鉛及び ATP レベルなどの変動を検討する。*In vivo* 実験:うつ病モデルマウス作製プロトコルを確立し、それらを用いてうつ病発症における P2X7 受容体の機能的発現変動及びその亜鉛による制御機構、並びに味覚障害発症機構を解明する。

4. 研究成果

In vitro 実験において、アストロサイトに対する非細胞傷害的な過酸化水素による酸化ストレス負荷が、(1)細胞による亜鉛取り込み活性の増大を惹起し、それは高親和性及び低親和性取り込み機構のうち後者の実体である ZIP1 の発現増大によること、(2)細胞の活性化に起因したその貪食活性の低下を引き起こし、それは細胞内遊離型亜鉛レベルの増大、P2X7 受容体のスプライスバリエーション群の発現割合の変動、そして P2X7 受容体の細胞膜からサイトゾルへの局在変化に伴ったチャンネル/ポア活性の低下に起因するものであることを明らかにした。これらの成績は、うつ病におけるアストロサイトの機能変動が、少なくとも一部、酸化ストレス負荷アストロサイトにおける P2X7 受容体 亜鉛シグナリングの変動に起因することを示すものである。

In vivo 実験では、慢性的社会敗北ストレスの負荷により、体重減少、社会性低下(社会性試験による評価)、うつ様行動(強制水泳試験による評価)、無快楽症所見(ショ糖二瓶選択肢試験による評価)と共に、脳海馬での炎症所見(リアルタイム PCR を用いた炎症性サイトカインなどの発現増大による評価)を再現性良く示すうつ病モデルマウス作製のためのプロトコルが確立できた。本うつ病モデルマウスにおける甘味感受性低下の分子機構について検討した結果、それは舌有郭乳頭の味蕾を構成する II 型味細胞における甘味受容体 T1R2 及び T1R3 の発現量の増大に起因することを明らかにした。さらに、これらマウスにおける腸内細菌叢の変動の有無を評価するための 16S rRNA メタゲノム解析法を確立し、対照群と明らかに異なることを認めた。

以上のように本研究課題の遂行によって、うつ病モデルマウスにおける亜鉛及び P2X7 受容体を介したアストロサイトの機能変動機構及び味覚異常分子機構と共に、脳-腸連関不全における腸内細菌叢役割を解明するための研究基盤が形成できた。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 13 件)

1. Takahiro Furuta, Ayumi Mukai, Akihiro Ohishi, Kentaro Nishida, Kazuki Nagasawa. Oxidative stress-induced increase of intracellular zinc in astrocytes decreases their functional expression of P2X7 receptors and engulfing activity. *Metallomics*, **9**, 1839-1851, 2017.
2. Akihiro Koike, Jyakucho Sou, Akihiro Ohishi, Kentaro Nishida, Kazuki Nagasawa. Inhibitory effect of divalent metal cations on zinc uptake *via* mouse Zrt/Irt-like protein 8 (ZIP8). *Life Sciences*, **173**, 80-85, 2017.

3. Takahiro Furuta, Chiaki Ohshima, Mayu Matsumura, Naoto Takebayashi, Emi Hirota, Toshiki Mawaribuchi, Kentaro Nishida, Kazuki Nagasawa. Oxidative stress upregulates zinc uptake activity via Zrt/Irt-like protein 1 (ZIP1) in cultured mouse astrocytes. *Life Sciences*, **151**, 305-312, 2016.

〔学会発表〕(計 15 件)

1. 濱野咲佳, 山田由紀江, 上村祐介, 桑垣衣里奈, 高畑祐香, 吉本和佳, 長澤一樹. 社会敗北ストレス負荷うつ病モデルマウスにおける甘味嗜好性及び甘味受容体の発現の変化について. 日本薬学会第 139 年会, 幕張, 2019. 3. 20-23.
2. Kazuki Nagasawa, Takahiro Furuta, Akihiro Ohishi. Intracellular labile zinc level is a determinant of vulnerability of cultured astrocytes to oxidative stress. The Joint Congress of the 40th Annual Meeting of Japanese Society of Biological Psychiatry and the 61st Annual Meeting of the Japanese Society for Neurochemistry. Kobe, 2018. 9. 6-8.
3. 大堀健史, 藤原麻紀子, 大石晃弘, 西田健太郎, 魚住嘉伸, 長澤一樹. Dextran sulfate sodium 誘発性炎症性腸疾患に対する magnesium 経口投与の予防効果. 海洋深層水利用学会第 22 回全国大会 (韓国大会), 韓国, 2018. 10. 18-19.
4. 小林真実, 山田由紀江, 上村祐介, 桑垣衣里奈, 濱野咲佳, 大石晃弘, 長澤一樹. 社会敗北ストレス負荷によるうつ様行動誘発におけるマウス系統差に関する研究. 日本味と匂学会第 52 回大会. 大宮, 2018. 9. 29-31.
5. 山田由紀江, 上村祐介, 桑垣衣里奈, 濱野咲佳, 大石晃弘, 長澤一樹. 社会敗北ストレス負荷されたうつ病モデルマウスにおける甘味嗜好性及び甘味受容体の発現の変化. 日本味と匂学会第 52 回大会, 大宮, 2018. 9. 29-31.
6. 長澤一樹, 古田能裕, 大石晃弘. TRPM7 を介したアストロサイト細胞内遊離型亜鉛レベルの制御は酸化ストレスに対する脆弱性を決定する要因の一つである. フォーラム 2018, 佐世保, 2018. 9. 10-11.
7. 古田能裕, 中尾亮仁, 大石晃弘, 長澤一樹. 酸化ストレスに対するマウスアストロサイトの脆弱性の系統差は細胞内遊離型亜鉛レベルの差異に起因する. 日本薬学会第 138 年会, 金沢, 2018. 3. 25-28.
8. 大石晃弘, 大堀健史, 藤原麻紀子, 魚住嘉伸, 西田健太郎, 長澤一樹. Dextran sulfate sodium (DSS) 誘発性炎症性腸疾患に対する magnesium 経口投与の予防効果. 第 11 回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム, 京都, 2017. 10.
9. 古田能裕, 向井あゆみ, 大石晃弘, 西田健太郎, 長澤一樹. 酸化ストレス負荷により増加したアストロサイト細胞内遊離型亜鉛は P2X7 受容体の機能的発現低下を介してその貪食活性を低下させる. メタルバイオサイエンス研究会 2017, 岡山, 2017. 10. 13-14.
10. 大堀健史, 藤原麻紀子, 大石晃弘, 西田健太郎, 魚住嘉伸, 長澤一樹. Dextran sulfate sodium (DSS) 誘発性炎症性腸疾患に対する magnesium 経口投与の予防効果. メタルバイオサイエンス研究会 2017, 岡山, 2017. 10. 13-14.
11. 長澤一樹. 亜鉛によるグリア細胞機能制御. 日本薬学会第 137 年会, 仙台, 2017. 3. 24-27.
12. 本田梨紗, 大堀健史, 藤原麻紀子, 大石晃弘, 西田健太郎, 魚住嘉伸, 長澤一樹. Dextran sulfate sodium (DSS) 誘発炎症性腸疾患に対するマグネシウム投与の影響について. 日本薬学会第 137 年会, 仙台, 2017. 3. 24-27.
13. 大堀健史, 藤原麻紀子, 端口佳宏, 魚住嘉伸, 大石晃弘, 西田健太郎, 長澤一樹. Dextran sulfate sodium (DSS) 誘発炎症性腸疾患に対する二価金属カオチン投与の影響について.

第 66 回日本薬学会近畿支部総会・大会, 大阪, 2016. 10. 15.

14. 古田能裕, 向井あゆみ, 山本美菜, 須藤嵩史, 大石晃弘, 西田健太郎, 長澤一樹. 酸化ストレス負荷によりアストロサイトにおける P2X7 受容体の機能的発現は減少する. 第 59 回日本神経化学学会大会・第 38 回日本生物学的精神医学会合同年会, 福岡, 2016. 9. 9-11.
15. 大石晃弘, 毛野祐花, 丸宮彩香, 須藤悠悟, 西田健太郎, 長澤一樹. ATP 誘発性神経細胞死に対する P2X7 受容体の発現量の影響. 第 59 回日本神経化学学会大会・第 38 回日本生物学的精神医学会合同年会, 福岡, 2016. 9. 9-11.

〔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：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：西田 健太郎

ローマ字氏名：Kentaro Nishida

所属研究機関名：京都薬科大学

部局名：衛生化学分野

職名：講師

研究者番号 (8 桁): 20533805

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。