

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 9 日現在

機関番号：13401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461753

研究課題名(和文) 亜鉛欠乏および社会的隔離による情動変化に関する基礎的研究

研究課題名(英文) The basic research of the change of mood by zinc deficiency and social isolation

研究代表者

小俣 直人 (Omata, Naoto)

福井大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：30334832

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)：実験動物(ラット)に対して亜鉛欠乏(zinc deficiency, ZD)や社会的隔離(social isolation, SI)を負荷したところ、ZDやSI単独では不安様行動やうつ様行動が増加したが、同時負荷ではそれはかえって減弱した。また、ZDやSI単独の負荷では青斑核におけるNEトランスポーターの発現や海馬における脳由来神経成長因子の発現が低下し、同時負荷によりこれらの傾向がより顕著となった。以上より、ZDやSI単独の負荷ではうつ状態となるが、同時負荷では躁状態となる可能性があること、また、これらの行動変化にはNE神経系や神経可塑性の障害が関与している可能性があることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Zinc deficiency (ZD) or/and Social Isolation (SI) were loaded to rats. ZD or SI alone increased anxiety-related behavior and depression-like behavior, but the co-occurrence of ZD and SI decreased them. ZD or SI alone decreased the expression of NE transporter in the locus coeruleus and the expression of brain-derived neurotrophic factor in the hippocampus, and the co-occurrence of ZD and SI made these incidences more prominent. These findings suggest that ZD or SI alone induces depressive state, but the co-occurrence of ZD and SI induces manic state, and that the impairment of NE system and neuronal plasticity contribute to these behavioral changes.

研究分野：気分障害

キーワード：亜鉛欠乏 社会的隔離 うつ様状態 躁様状態 ノルエピネフリン 神経可塑性

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 亜鉛は、生体の発育並びに生命活動の維持にかかわる必須生体微量元素の一つである。近年、亜鉛欠乏によりうつ状態となることが指摘されているが、厚生労働省の調査によると、現在の日本人の半数以上は亜鉛摂取が不足している。一方、生活環境が精神疾患の発症に重大な影響を及ぼすこともよく知られている。経済協力開発機構の調査によると、劣悪な生活環境の一つであり、うつ状態を引き起こすことでも知られる社会的隔離の度合いが、日本人は世界で一番高い。従って、亜鉛欠乏と社会的隔離は、どちらもうつを引き起こす社会的な問題と言える。

(2) うつ病の病態仮説として、ノルエピネフリン(norepinephrine, NE)神経系の障害や、神経可塑性の障害の関与が指摘されている。NEは神経伝達物質の一つであり、情動や記憶を担っている。神経終末から放出されたNEは、NEトランスポーター(norepinephrine transporter, NET)によりシナプス間隙から速やかに除去されて神経伝達が終息する。神経可塑性は、脳由来神経成長因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)やpost-synaptic density-95(PSD-95)などのタンパクによって担われている。亜鉛欠乏と社会的隔離はどちらもNE神経系や神経可塑性を障害することから、これらの負荷が同時に存在するとNE神経系や神経可塑性を介して情動に相乗的な悪影響を及ぼし、昨今問題となっているうつ病の患者数増加や難治化に加担しているのかもしれない。

### 2. 研究の目的

(1) 実験動物に対して亜鉛欠乏または/および社会的隔離を負荷した際の、情動に関連した行動の変化を解析する。

(2) (1)におけるNE神経系の変化を評価する。

(3) (1)における神経可塑性の変化を評価する。

### 3. 研究の方法

(1) 亜鉛欠乏または/および社会的隔離が情動に与える影響

3週齢のラットを搬入し、コントロール群は通常条件(集団)で、社会的隔離(Social Isolation, SI)負荷群は個別にて飼育を開始した。1週間後(4週齢)、亜鉛欠乏(Zinc deficiency, ZD)負荷群は食餌を普通食から亜鉛欠乏食に切り替え、さらに2週間飼育した(6週齢)。以上のようにして、コントロール群、SI群、ZD群およびSI+ZD群の計4群を設定した。各群に対して、不安様行動は高架式十字迷路試験を用いて評価し、指標はオープンアーム滞在時間の割合(オープンアーム滞在時間/全アーム滞在時間、%オープン)とした。うつ様行動については強制水泳試験

を用いて評価し、指標は無動時間とした。

(2) 亜鉛欠乏または/および社会的隔離がNE神経系に与える影響

(1)の行動試験終了後に、NEの代謝産物であり中枢NE神経系の活動性を反映する3-methoxy-4-hydroxyphenylglycol(MHPG)の血中濃度測定および脳内NETの発現定量を行った。MHPGの血中濃度測定は、電気化学検出器付き高速液体クロマトグラフィーを用いて行った。NETの発現定量は、 $[^{77}\text{Br}]$ で標識された放射性リガンドである(S,S)-2-(2-(2-bromophenoxy)benzyl)morpholine((SS)- $[^{77}\text{Br}]$ BPBM)を用いたオートラジオグラフィー法により行った。

(3) 亜鉛欠乏または/および社会的隔離が神経可塑性に与える影響

(1)の行動試験終了後に海馬を切り出し、BDNFやPSD-95をターゲットとしたwestern blottingを行った。

### 4. 研究成果

(1) 亜鉛欠乏または/および社会的隔離が情動に与える影響

不安様行動の評価

高架式十字迷路試験を用いて不安様行動を評価した。コントロール群と比べて、SI群およびZD群では%オープンが減少(不安様行動が増加)したが、SI+ZD群では%オープンは増加(不安様行動が減弱)していた(図1)。

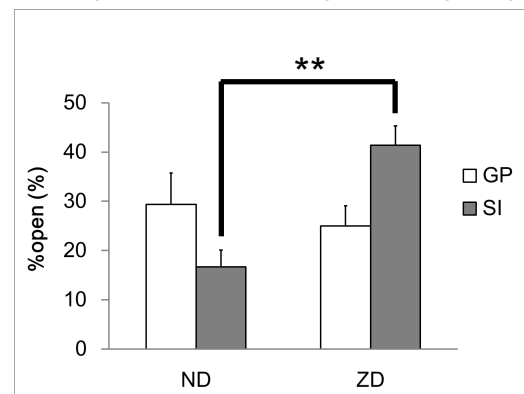


図1 高架式十字迷路

GP; グループ飼育(通常飼育)

SI; 個別飼育(社会的隔離)

ND; 普通食

ZD; 亜鉛欠乏食

\*\*P <0.01

うつ様行動の評価

強制水泳試験を用いてうつ様行動を評価した。コントロール群と比べて、SI群およびZD群では無動時間が延長(うつ様行動が増加)する傾向にあったが、SI+ZD群ではそのような傾向は認められなかった(図2)。

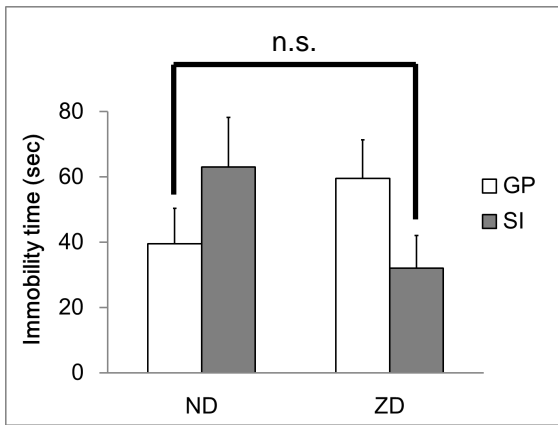


図2 高架式十字迷路  
n.s.: not significant

(2) 亜鉛欠乏または/および社会的隔離が NE 神経系に与える影響

中枢 NE 神経系の活動性

NE の代謝産物であり中枢 NE 神経系の活動性を反映する MHPG の血中濃度を測定した。血中 MHPG 濃度は、コントロール群と比べて ZD 群において有意に上昇しており、その傾向は SI+ZD 群でより顕著となった (図3)。

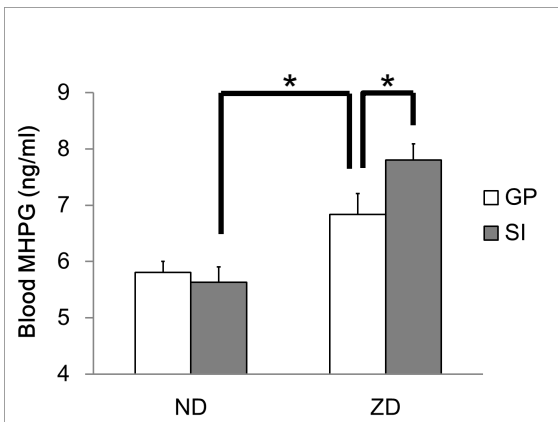


図3 血中 MHPG 濃度  
\*\*P < 0.05

脳内 NET 発現

[<sup>77</sup>Br] で標識された放射性リガンドである (SS)-[<sup>77</sup>Br]BPBM を用いたオートラジオグラフィにより、脳内 NET の発現を定量した。NET の発現は、特に青斑核において、コントロール群と比べて ZD 群において低下しており、その傾向は SI+ZD 群でより顕著となった (図4)。

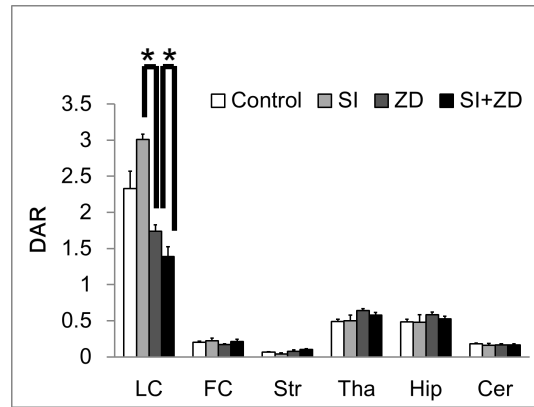


図4 脳内 NET 発現

LC ; 青斑核 (locus coeruleus)

FC ; 前頭葉皮質 (frontal cortex)

Str ; 線条体 (striatum)

Tha ; 視床 (thalamus)

Hip ; 海馬 (hippocampus)

Cer ; 小脳 (cerebellum)

DAR ; distribution absorption ratio、体重で補正した放射性リガンド集積の指標

(3) 亜鉛欠乏または/および社会的隔離が神経可塑性に与える影響

海馬を切り出し、神経可塑性に深く関与するタンパクである BDNF や PSD-95 をターゲットした western blotting を行った。BDNF や PSD-95 の発現は、コントロール群と比べて SI 群や ZD 群ではある程度低下しており、SI+ZD 群ではさらに低下していた (図5)。

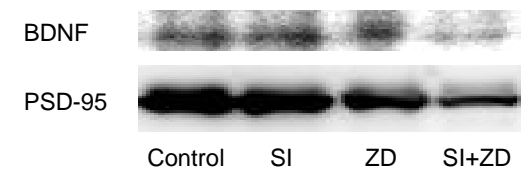


図5 western blotting

(4) 考察

情動に関連した行動解析に関しては、亜鉛欠乏や社会的隔離が単独で負荷された場合は、従来の報告と同様に不安様行動やうつ様行動が増強された。しかし、両者が同時に負荷されると、これらの行動がより顕著となるのではなく、かえって減弱する結果となった。従って、亜鉛欠乏や社会的隔離が単独で負荷されるとうつ状態を呈するが、両者が同時に負荷されると、うつ状態がより顕著となるのではなく、逆に躁状態を呈する可能性が示唆された。

NE 神経系の変化に関しては、亜鉛欠乏や社会的隔離の単独負荷により中枢 NE 神経系の活動性が上昇して青斑核における NE トランスポーターの発現が低下し、この傾向は亜鉛欠乏と社会的隔離が同時に負荷されるとより顕著となった。これらの結果は、亜鉛欠乏や社会的隔離により NE トランスポーターの発現が低下してシナプス間隙の NE が増加した

結果、NE 神経系の活動性が病的に亢進したこと、さらには亜鉛欠乏と社会的隔離が同時に負荷されることにより、この傾向がより顕著となることを示しているのかもしれない。神経可塑性の変化に関しては、海馬における BDNF や PSD-95 の発現が、亜鉛欠乏や社会的隔離の単独負荷によりある程度低下し、両者の同時負荷によりさらに低下した。従って、神経可塑性は亜鉛欠乏や社会的隔離の単独負荷によりある程度障害され、両者の同時負荷によりさらに障害される可能性があることが示唆された。

以上より、亜鉛欠乏や社会的隔離単独の負荷ではうつ状態となるが、同時負荷では躁状態となる可能性があること、また、これらの行動変化には NE 神経系や神経可塑性の障害が関与している可能性があることが明らかとなった。

#### 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)

Mitsuya H, Omata N, Kiyono Y, Mizuno T, Murata T, Mita K, Okazawa H, Wada Y. The co-occurrence of zinc deficiency and social isolation has the opposite effects on mood compared with either condition alone due to changes in the central norepinephrine system. Behav Brain Res. 査読有. 2015 May 1;284:125-30. doi: 10.1016/j.bbr.2015.02.005.

Omata N, Mizuno T, Mitsuya H, Mita K, Higashi Y, Kamichika T, Kiyono Y, Okazawa H, Wada Y. Neuronal plasticity in depressive or manic states - New assessment of our hypothesis: Mania is an extension of depression from the perspective of neuronal plasticity. Med Hypotheses. 査読有. 2014 Oct 13;83(6):845-6. doi: 10.1016/j.mehy.2014.10.004.

小俣直人、水野智之、三屋博宣、和田有司：気分障害の病態や治療薬の作用機序に関する、神経可塑性と神経系への負荷からみた多軸的な評価。日本神経精神薬理学雑誌。査読無。2013；33(5-6)：231-6

Mizuno T, Omata N, Murata T, Mitsuya H, Maruoka N, Mita K, Kiyono Y, Okazawa H, Ikeda H, Wada Y. Mania: Not the opposite of depression, but an extension? Neuronal plasticity and polarity. Med Hypotheses. 査読有. 2013 Aug;81(2):175-9. doi: 10.1016/j.mehy.2013.05.012.

##### [学会発表](計8件)

小俣直人：どうして気分安定薬は躁にも

うつにも効くのだろうか？。第2回若手分子精神医学研究会，2015年11月，神戸。

小俣直人：内因性精神疾患の病態および治療薬物の作用機序に関する一作業仮説の提案，第15回北陸PPST研究会，2015年9月，金沢

Omata N, Mizuno T, Mitsuya H, Mita K, Okazawa H, Wada Y, Kiyono Y: Disappearance of depression-related behaviors by extension of duration of social isolation; is mania beyond depression? International Workshop on Molecular Functional Imaging for Brain and Gynecologic Oncology (Fukui-2014), 2014,3, Fukui (Japan).

Kashiwahara M, Omata N, Mizuno T, Asai T, Okazawa H, Kiyono Y: Imaging of changes in norepinephrine transporter in depression model rats with a radiobrominated

(2S, S)-2-(2-(2-bromophenoxy)benzyl)morpholine. International Workshop on Molecular Functional Imaging for Brain and Gynecologic Oncology (Fukui-2014), 2014,3, Fukui (Japan).

小俣直人：躁はうつの延長にある：気分障害における神経可塑性と神経系への負荷との多軸的評価の試み。第12回Bipolar Disorder研究会。2013年11月，東京

小俣直人、水野智之、三屋博宣、和田有司：社会的な孤立期間の延長によるうつ様状態の消失：躁はうつの延長上にあるのか？。第32回躁うつ病の薬理・生化学的研究懇話会。2013年11月，熱海

Kiyono Y, Kashiwahara M, Omata N, Mizuno T, Mori T, Asai T, Okazawa H: Imaging of changes in norepinephrine transporter in depression model rats with a radiobrominated (2S, S)-2-(2-(2-bromophenoxy)benzyl)morpholine. The 60th Annual Meeting of The Society of Nuclear Medicine, 2013,6, Vancouver (Canada).

Mizuno T, Omata N, Murata T, Mitsuya H, Maruoka N, Mita K, Kiyono Y, Okazawa H, Wada Y: Effects of the combination of zinc deficiency and social isolation on depression-like state in rats. 11th World Congress of Biological Psychiatry, 2013,6, Kyoto (Japan)

##### [図書](計1件)

小俣直人、水野智之、三屋博宣、和田有司：躁はうつの延長にある-気分障害における神経可塑性と神経系への負荷との多軸的評価の試み：Bipolar Disorder研究会(編)：Bipolar Disorder 12、初版、(株)アルタ出版、38-48、2014年6月

〔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://seisin.med.lab.u-fukui.ac.jp/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

小俣 直人 (OMATA Naoto)

福井大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：30334832

### (2) 研究分担者

清野 泰 (KIYONO Yasushi)

福井大学・高エネルギー医学研究センター・

教授

研究者番号：50305603

### (3) 研究協力者

水野 智之 (MIZUNO Tomoyuki)

福井大学・医学部病態制御医学講座精神医学

領域・協力研究員

丸岡 伸行 (MARUOKA Nobuyuki)

福井大学・医学部病態制御医学講座精神医学

領域・協力研究員