

令和元年6月14日現在

機関番号：24701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K19291

研究課題名（和文）うつ様行動を引き起こす小脳-ゲノミクスとモルフォロジーからのアプローチ-

研究課題名（英文）Examining mechanisms of inducing depressive-like behavior

研究代表者

山本 悠太 (Yamamoto, Yuta)

和歌山県立医科大学・医学部・講師

研究者番号：00580672

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、幼若ラットに電気刺激ストレスを負荷することによるうつ様モデルラットを作製し、小脳血流量を増大させることが知られている有酸素運動をラットに負荷できるよう回転ケージで飼育を行うことで、うつ様行動が減弱するか検討を行った。強制水泳試験の結果、回転ケージ飼育を行うことでうつ様行動が減弱した。しかし、成長ホルモン1遺伝子は小脳で発現低下した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

この結果より、うつ様行動を示すラットにおいて、自由な運動を可能にする回転ケージ飼育により、自発的な有酸素運動がうつ様行動の抑制する可能性を初めて見出した。本研究性化より、近年問題となっている、小児の虐待によるストレスで惹起されたうつ病を、有酸素運動による介入で軽減できる可能性を示すことができた一方で、小脳に有害な可能性も認める結果となり、更なる検討が必要である。

研究成果の概要（英文）：To examine whether aerobic exercise which increases the blood flow in cerebellum reduce the depression, the depression model rat loaded by electrical stimulation stress were reared in wheel cage. Forced swimming tests indicated the decrease of depressive-like behavior in wheel cage rearing. However, the expression of growth hormone gene 1 was decreased in the cerebellum of depression model rats.

研究分野：うつ

キーワード：うつ 幼若ストレス 回転ケージ飼育

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

## 1. 研究開始当初の背景

うつ様行動を制御する脳部位として海馬や扁桃、視床下部が知られており多くの研究が行われているが、運動を制御する脳部位である小脳も情動を制御する可能性が示唆されるようになった。申請者は前回の研究(平成 24-26 年度 若手 B)にて、うつ様行動を示すラット小脳の遺伝子発現変化を DNA マイクロアレイにより解析し、パスウェイ解析により発現変化した遺伝子間の関係性を解析したところ、成長ホルモン遺伝子(*Gh1*)を中心とした遺伝子群の発現変化を見出した。*Gh1*は小脳で顕著な発現減少をしており、小脳における *Gh1* の発現減少を中心とした遺伝子発現変化が、うつ様行動の増加に關与する可能性を示すことができた。

うつ様行動を示すラット小脳の *Gh1* の発現減少を中心とした遺伝子発現変化を明らかにしたが、この分子メカニズムは見出せなかった。*Gh1* の発現減少するメカニズムは、上流遺伝子の発現変化だけでなく、マイクロ RNA による上流遺伝子の翻訳抑制や選択的スプライシングの変化による上流遺伝子の活性変化も考えられる。本研究では、マイクロ RNA の発現や選択的スプライシングの変化も *Gh1* の発現減少に關与していることを期待し、DNA マイクロアレイ、マイクロ RNA アレイ、エクソンアレイを用いて、*Gh1* の発現減少させる分子メカニズムを特定する。ラット小脳は生後 3 週齢まで発達し続け神経回路を構築するため、この時期の精神ストレスで神経回路の形成が阻害される。申請者は小脳がうつ様行動に關与する可能性を見出しており、また幼若期の精神ストレスはうつ病のリスクファクターであるため、幼若期の精神ストレスにより小脳の発達異常を示す動物の一部で、うつ様行動を示すことが期待できる。本研究では生後 1-3 週齢のラットに電気刺激や、母子分離といった精神ストレスを加え小脳において神経細胞数の変化や、神経細胞における樹状突起の伸長異常といった組織学的に発達異常を示すモデル動物を作製する。その中からうつ様行動を示す動物を見出し、小脳がうつ様行動を制御していることを明らかにする。

## 2. 研究の目的

うつ様行動を示すラット小脳での *Gh1* の発現減少を引き起こす分子メカニズムの解明  
申請者は、うつ様行動を示すラット小脳で *Gh1* の発現減少を中心とした遺伝子発現変化を明らかにしたが、この発現減少を引き起こす分子メカニズムは特定できなかった。遺伝子発現を調節するメカニズムは上流遺伝子の発現変化だけではなく、マイクロ RNA による上流遺伝子の翻訳抑制や選択的スプライシングによる上流遺伝子の活性変化がある。本研究では、DNA マイクロアレイ(遺伝子発現解析)、マイクロ RNA アレイ(マイクロ RNA 発現解析)およびエクソンアレイ(選択的スプライシング解析)を用いて解析を行い、うつ様行動を示すラットのラット小脳で *Gh1* の発現減少を引き起こす分子メカニズムを特定する。

幼若期のストレス負荷により小脳に発達異常が生じるラットの作製とうつ様行動の評価

ラットは生後小脳の発達が続いており、生後 3 週齢までに顆粒細胞が外顆粒層から内顆粒層へ移動し、プルキンエ細胞の樹状突起が伸長することなどで神経回路の構築が行われる。このため、幼若期に電気ショックや母子分離ストレスといった精神ストレスを加えることで小脳発達への形態学的な異常が期待できる。本研究では幼若期に精神ストレスを負荷し小脳の発達異常を示すモデル動物を見出す。幼若期の精神ストレスは、うつ病のリスクファクターであり、小脳はうつ様行動との關連する可能性があるため、幼若期の精神ストレスにより小脳に発達異常をきたすモデル動物のうち、うつ様行動を示すモデル動物を見出し、小脳がうつ様行動に關与していることを明らかにする。

## 3. 研究の方法

うつ様行動を示すラット小脳由来 RNA を用いて、DNA マイクロアレイ、マイクロ RNA アレイおよびエクソンアレイを用いて RNA の発現変化を多角的に解析し、パスウェイ解析により *Gh1* の発現減少の分子メカニズムを解明する。

小脳の生後の発達期である 3 週齢までに様々な精神的ストレスを加えることにより、小脳発達において組織学的な変化をもたらす動物モデルを特定する。更にこれらのモデル動物で、うつ様行動を示すものを見出し小脳発達の異常を起因とした新たなうつ様行動の動物モデルを確立する。

#### 4. 研究成果

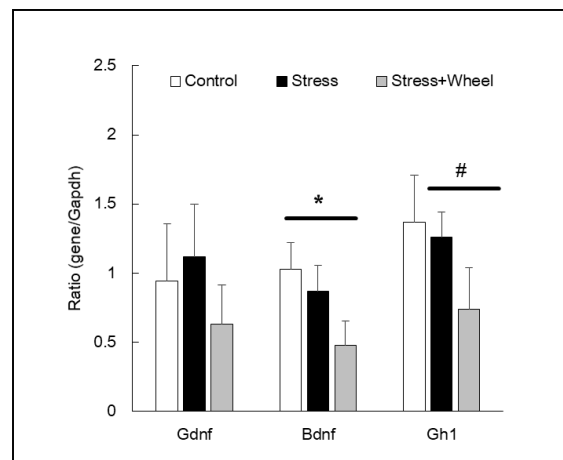
##### ● 幼若期電気刺激ストレスによる体重への影響

生後 7 日目より 21 日目まで電気刺激ストレスを毎日行ったところ、生後 7 日目の体重はコントロール群は  $14.7 \pm 1.0g$ 、電気ストレス群は  $13.9 \pm 2.2$ 、電気刺激ストレス + 回転ケージ飼育群では  $14.8 \pm 1.2g$  であったが、生後 21 日目では、コントロール群は  $45.1 \pm 4.5g$ 、電気ストレス群は  $43.4 \pm 6.6$ 、電気刺激ストレス + 回転ケージ飼育群では  $45.3 \pm 5.2g$  であり、電気ストレスが体重に影響を及ぼさなかった。

##### ● 電気刺激ストレスによるうつ様行動の増加と、回転ケージ飼育によるうつ様行動の減少 強制水泳試験における試験全体中における不動時間の割合はコントロール群で $36.5 \pm 10.1\%$ であったが、電気刺激ストレス群では $47.2 \pm 19.6\%$ とコントロール群に比べ有意に増加した。また回転ケージ飼育群では $26.3 \pm 3.8\%$ と電気刺激ストレス群と比較し有意に減少しており、回転ケージ飼育による、うつ様行動の減少効果を明らかにした。

##### ● 回転ケージ飼育による小脳における BDNF および *Gh1* 遺伝子の発現減少

小脳における遺伝子発現解析をリアルタイム PCR で行ったところ、電気刺激ストレスでは *Gh1* および *Bdnf* 遺伝子の発現に変化を認めなかったが、回転ケージ飼育により *Gh1* および *Bdnf* 遺伝子の発現が有意に減少した（右図）。



#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 4 件)

##### 1. 新生仔期の電気刺激ストレスにより惹起される不安・うつ様行動は回転ケージ飼育により軽減されるのか？

山本 悠太、山岸 直子、西利男、伊藤 隆雄

第121 回日本解剖学会総会 2019.3.26 新潟県新潟市

##### 2. 新生仔期の電気刺激ストレスにより惹起される不安・うつ様行動は回転ケージ飼育により軽減されるのか？

山本悠太、山岸直子、西利男、伊藤隆雄

第123回 日本解剖学会総会 2018.3.29 東京都小金井市

##### 3. 有酸素運動によるうつ様行動軽減効果についての解析

山本悠太、山岸直子、伊藤隆雄、上山敬司

第122回 日本解剖学会総会 2017.3.30 長崎県長崎市

4. うつ行動を制御する小脳-小脳発達障害モデルによるアプローチ-

山本悠太、伊藤隆雄、上山敬司

第121 回日本解剖学会総会 2016.3.28 福島県郡山市

〔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：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号(8桁)：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

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。