

令和 3 年 6 月 16 日現在

機関番号：32206

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K08314

研究課題名(和文) ミエリン形成に着眼したストレス適応機構の解明と新規うつ病治療薬の開発への応用

研究課題名(英文) Elucidation of stress adaptative mechanisms focusing on myelination and application to development of new therapeutic agents for depressive disorder

研究代表者

辻 稔(Tsuji, Minoru)

国際医療福祉大学・薬学部・教授

研究者番号：70297307

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)：ストレス適応マウスの海馬において、アストロサイトの活性化を伴うLIFの増加と、ERK-CREB-BDNFシグナルの亢進が認められた。一方、ストレス非適応マウスでは、オリゴデンドロサイトおよびミエリン構成タンパク質が減少していた。また、5-HT1A受容体作動薬は、ERK-CREB-BDNFシグナルの亢進を引き起こし、ストレス非適応マウスの障害を改善した。以上の知見から、海馬のLIFがオリゴデンドロサイトによるミエリン形成を介してストレス適応形成に寄与しており、5-HT1A受容体刺激はERK-CREB-BDNFシグナルを介してミエリン形成を促進することでストレス適応障害を改善することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、海馬におけるLIF-オリゴデンドロサイト-ミエリン連関係がストレスへの適応形成に関与していること、ならびに5-HT1A受容体刺激がERK-CREB-BDNFシグナルを介してミエリン形成を促進することでストレス適応障害を改善することを明らかにしたものである。これらの知見は、未だ不明な点が多いストレスに対する脳内の恒常性維持機構やうつ病などのストレス性精神疾患の病態生理の解明に大きな前進をもたらすものとする。また、今後ミエリン形成に主眼をおいた病態研究や創薬研究が推進され、ストレス性精神疾患に対する新たな治療薬が開発されることを期待する。

研究成果の概要(英文)：Increase in hippocampal LIF protein with astrocyte activation, as well as upregulation of ERK/CREB/BDNF signaling, was found in stress-adaptive mice. On the other hand, either mature oligodendrocytes or major myelin proteins were decreased in the hippocampus of stress-maladaptive mice. Furthermore, 5-HT1A receptor agonist improved an abnormal emotionality of stress-maladaptive mice by enhancing ERK/CREB/BDNF signaling. These findings suggest that LIF in the hippocampus, which may be derived from activated astrocytes, may contribute to the development of stress adaptation through the myelination by oligodendrocyte, and that activation of 5-HT1A receptors may ameliorate maladaptation to excessive stress by promote oligodendrogenesis and myelination via an ERK/CREB/BDNF signaling pathway.

研究分野：神経精神薬理学

キーワード：ストレス適応 白血病阻止因子 アストロサイト ミエリン オリゴデンドロサイト 5-HT1A受容体マウス

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、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

生体は、外界からのストレスに適応して恒常性を維持するための生理機構(ストレス適応機構)を有しているが、この機構の減弱や破綻が、様々なストレス性疾患の発症に関係していると考えられている。したがって、ストレス適応に關与する脳機能を考究することは、うつ病をはじめとする種々のストレス性精神疾患の発症要因や予防因子を明らかにし、新規の治療薬開発に向けた礎を築くための重要な課題である。

ミエリン(髓鞘)は、オリゴデンドロサイトにより軸索に形成され、脳神経伝導の高速化や修飾に寄与している。近年、ミエリンは、発達段階で見られるような遺伝的に規定された形成のみならず、成人においても様々な刺激に対応して変化し、脳神経細胞の機能に影響を及ぼすことが示唆されている(ミエリンの構造的および機能的可塑性の存在)。実際に、慢性的なストレス負荷がミエリン形成の障害を引き起こすこと、さらにはオリゴデンドロサイトおよびミエリンの形成・機能不全がうつ病などのストレス性精神疾患の病態に關与していることも明らかにされつつある。

2. 研究の目的

近年、白血病阻止因子(leukemia inhibitory factor: LIF)がオリゴデンドロサイト前駆細胞の分化や成熟細胞の増殖を高めて、脳神経細胞の軸索構成成分であるミエリンの形成を促進することが見出されている。一方、我々はこれまでに、5-HT_{1A}受容体作動薬を投与したマウスにおいて、ストレスに対する抵抗性¹⁾や認知機能の亢進²⁾が認められることを明らかにしている。また、これらストレスに対する抵抗性や認知機能の亢進を獲得したマウスの海馬における遺伝子発現を網羅的に解析した結果、LIFの著明な増加が生じていることを見出している³⁾。したがって、LIFによるオリゴデンドロサイトの活性化やミエリン形成を介した脳内神経伝達効率の亢進ならびに脳神経細胞の保護が、ストレスに対する適応の形成に寄与していることが示唆される。本研究では、この仮説を種々の研究手法を用いて多角的に実証し、ストレスに対する恒常性維持に關与する脳内メカニズムの解明と新規うつ病治療薬の開発への応用につなげることを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、実験動物に対する動物愛護上の問題に配慮し、本学の動物実験委員会承認のもと、「国際医療福祉大学動物実験規程」ならびに「動物実験に関する日本薬理学会指針」を遵守して、適切な実験動物の飼育と動物実験を実施した。

(1) ストレス適応および適応障害モデルマウスの作成と情動変化の検証

既報⁴⁾の方法に従って、ストレス適応および適応障害モデルマウスを作成した。マウスに適応可能な強度(1日1回1時間)あるいは適応不可能な強度(1日1回4時間)の拘束ストレスを14日間慢性負荷し、最終ストレス負荷直後にホールボード試験にて情動行動を評価した。拘束ストレスの急性負荷により誘発される情動行動の低下が消失することをストレス適応形成の指標とし、依然認められるかあるいはさらに増悪することをストレス適応障害の指標とした。

(2) ストレス適応および適応障害モデルマウスの脳内におけるLIF、ミエリン形成関連シグナル伝達因子およびミエリン構成因子の発現変動解析

上記(1)で作成したモデルマウスの情動調節に関わる各脳部位(大脳皮質、視床下部、扁桃体、海馬、中脳)組織を採取し、LIFおよびその受容体(LIF receptor/gp130 complex)、ミエリン形成に關与するシグナル伝達因子(signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3), extracellular signal-regulated kinase (ERK), cAMP response element-binding protein (CREB))ならびにミエリン構成タンパク質(myelin associated glycoprotein (MAG), myelin basic protein (MBP), proteolipid protein (PLP), myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG), myelin-associated oligodendrocytic basic protein (MOBP), 2',3'-cyclic-nucleotide 3'-phosphodiesterase (CNPase))の変化を、特異的抗体を用いたwestern blot法により定量した。また、各脳部位を含むスライス標本を作成し、オリゴデンドロサイト未熟細胞、オリゴデンドロサイト成熟細胞およびミエリン構成タンパク質の局在と発現量を、特異的抗体を用いた免疫組織化学染色法にて検証した。

(3) ミエリン形成障害モデルマウスのストレス適応能力の解析

0.2%クプリゾンを混入させた粉末飼料を1週間、2週間あるいは6週間マウスに摂取させ、上記(1)の方法に準拠してストレス適応能力の変化について検証した。また、海馬における各種ミエリン構成タンパク質の発現量をwestern blot法に従い定量するとともに、オリゴデンドロサイト未熟および成熟細胞の発現様式を免疫組織化学染色法により解析した。

(4) ストレス適応障害モデルマウスおよびミエリン形成障害モデルマウスに対する5-HT_{1A}受容体作動薬の効果の検証

上記(1)~(3)の検討で認められたストレス適応障害モデルマウスおよびミエリン形成障

害モデルマウスにおける行動学的および生化学的变化に対して、5-HT_{1A} 受容体作動薬であるフレジノキサンが示す抑制効果について検証した。

4. 研究成果

(1) ストレス適応および適応障害モデルマウスの作成と情動変化の検証

1日1回1時間の拘束ストレスを2週間慢性負荷した場合、急性負荷により誘発される情動行動の低下が消失し、ストレス適応の形成が認められた(ストレス適応モデルマウス)。一方、慢性負荷する拘束ストレスの時間を4時間に延長した場合ではストレス適応が形成されず、依然、情動行動は低下していた(ストレス適応障害モデルマウス)。

(2) ストレス適応および適応障害モデルマウスの脳内における LIF、ミエリン形成関連シグナル伝達因子およびミエリン構成因子の発現変動解析

ストレス適応マウスの海馬において、アストロサイトの活性化を伴う LIF の増加とともに、ERK-CREB-BDNF シグナルの特異的な亢進が認められた。一方、ストレス適応障害モデルマウスの海馬では、アストロサイトの活性化、LIF の増加ならびに ERK-CREB-BDNF シグナルの亢進いずれもが認められず、ミエリン構成タンパク質 (MBP および MAG) ならびにオリゴデンドロサイト未熟および成熟細胞がともに減少していた。

(3) ミエリン形成障害モデルマウスのストレス適応能力の解析

クプリゾン含有餌ペレットを摂取させたマウスでは、海馬におけるミエリン構成タンパク質 (MBP, MAG, PLP, CNPase) の減少とともに、ストレス適応能力の減弱が認められた。

(4) ストレス適応障害モデルマウスおよびミエリン形成障害モデルマウスに対する 5-HT_{1A} 受容体作動薬の効果の検証

フレジノキサンの投与により、ストレス適応障害モデルマウスの情動性の低下、海馬におけるミエリン構成タンパク質 (MBP および MAG) ならびにオリゴデンドロサイト未熟および成熟細胞の減少が抑制され、且つ、ERK-CREB-BDNF シグナルの亢進が認められた。さらに、ミエリン形成障害モデルマウスのストレス適応能力の減弱およびミエリン構成タンパク質 (MBP, MAG, PLP, CNPase) の減少も、フレジノキサンの投与により抑制された。

(5) まとめ

以上の知見から、海馬アストロサイト由来の LIF がオリゴデンドロサイトによるミエリン形成に寄与しており、この機構の破綻がストレスへの適応障害の一因であることが示唆された。また、5-HT_{1A} 受容体刺激は ERK-CREB-BDNF シグナルを介してミエリン形成を促進し、ストレスへの適応障害を改善することも示唆された。したがって、ミエリン形成に主眼をおいた研究のさらなる推進が、うつ病などのストレスへの適応障害に起因する疾患の病態解明や新規治療法の開発につながると期待される。

< 引用文献 >

- 1) Tsuji M et al., Br J Pharmacol 134, 585-595, 2001
- 2) Tsuji M et al., Neuropsychopharmacology 28, 664-674, 2003
- 3) Tsuji M et al., J Pharmacol Sci 125, 347-354, 2014
- 4) Tsuji M et al., Phytomedicine 21, 363-371, 2014

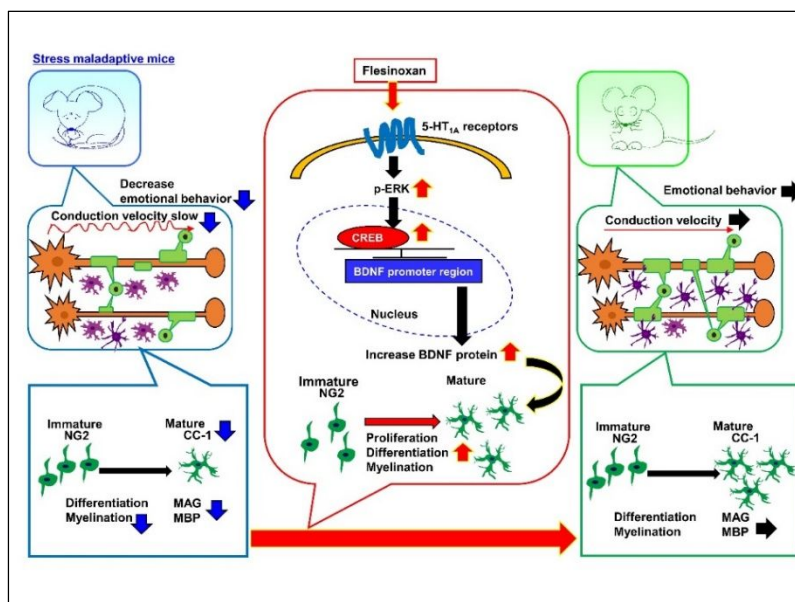


Fig. Schematic diagram of the mechanism of effect of 5-HT_{1A} receptor agonist on stress maladaptation caused by abnormalities in myelination

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kazuhiro Kurokawa, Minoru Tsuji, Kohei Takahashi, Kazuya Miyagawa, Atsumi Mochida-Saito, Hiroshi Takeda	4. 巻 446
2. 論文標題 Leukemia Inhibitory Factor Participates in the Formation of Stress Adaptation via Hippocampal Myelination in Mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neuroscience	6. 最初と最後の頁 1~13
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neuroscience.2020.08.030	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hiroko Miyagishi, Minoru Tsuji, Kazuya Miyagawa, Kazuhiro Kurokawa, Atsumi Mochida-Saito, Kohei Takahashi, Kumiko Ishige, Hiroshi Takeda	4. 巻 733
2. 論文標題 Characterization of 5-HT1A receptor and transport protein KIF13A expression in the hippocampus of stress-adaptive and -maladaptive mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neuroscience Letters	6. 最初と最後の頁 135082 ~ 135082
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neulet.2020.135082	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 黒川和宏、辻 稔、宮岸寛子、齋藤淳美、宮川和也、武田弘志
2. 発表標題 ストレス適応の形成に白血病阻止因子が関与する
3. 学会等名 第34回日本ストレス学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 黒川和宏、辻 稔、宮岸寛子、持田（齋藤）淳美、君島秀尚、宮川和也、武田弘志
2. 発表標題 ストレス適応の形成における白血病阻止因子の関与
3. 学会等名 第92回日本薬理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Minoru Tsuji, Kazuhiro Kurokawa, Kazuya Miyagawa, Atsumi Mochida-Saito, Hiroshi Takeda
2. 発表標題 Possible involvement of hippocampal leukemia inhibitory factor in the formation of stress adaptation in mice
3. 学会等名 6th Congress of Asian College of Neuropsychopharmacology (AsCNP) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kazuhiro Kurokawa, Minoru Tsuji, Kazuya Miyagawa, Atsumi Mochida-Saito, Hiroshi Takeda
2. 発表標題 Activation of 5-HT1A receptor protects the myelin loss in a mouse model of stress-maladaptation
3. 学会等名 6th Congress of Asian College of Neuropsychopharmacology (AsCNP) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 黒川和宏、辻 稔、高橋浩平、持田（齋藤）淳美、宮川和也、武田弘志
2. 発表標題 フレジノキサンはストレス誘発ミエリン障害を改善する
3. 学会等名 第35回日本ストレス学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 黒川和宏、高橋浩平、宮川和也、持田（齋藤）淳美、武田弘志、辻 稔
2. 発表標題 ストレスへの不適応に起因するミエリン障害における5-HT1A受容体の役割
3. 学会等名 第93回日本薬理学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 黒川和宏、高橋浩平、宮川和也、持田（齋藤）淳美、武田弘志、辻 稔
2. 発表標題 ストレスへの不適応に起因するミエリン障害に対するフレジノキサンの保護効果
3. 学会等名 第94回日本薬理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 辻 稔、黒川和宏、高橋浩平、宮川和也、持田（齋藤）淳美、武田弘志
2. 発表標題 ストレス適応の概念に基づいた精神疾患の病態および治療に関する基礎研究
3. 学会等名 第12回日本安全性薬理研究会学術大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Kazuya Miyagawa, Minoru Tsuji, Hiroshi Takeda (分担執筆)	4. 発行年 2018年
2. 出版社 NOVA Science Publishers	5. 総ページ数 243
3. 書名 Facilitating Resilience After PTSD: A Translational Approach (執筆分タイトル: Role of Epigenetic Mechanisms in the Post-traumatic Stress Disorder and Stress Resistance)	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	宮川 和也 (Miyagawa Kazuya) (10453408)	国際医療福祉大学・薬学部・准教授 (32206)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	黒川 和宏 (Kurokawa Kazuhiro) (30454846)	国際医療福祉大学・薬学部・講師 (32206)	
連携研究者	高橋 浩平 (Takahashi Kohei) (90846411)	国際医療福祉大学・薬学部・助教 (32206)	
連携研究者	持田（齋藤） 淳美 (Mochida-Saito Atsumi) (80709022)	国際医療福祉大学・薬学部・助教 (32206)	
連携研究者	武田 弘志 (Takeda Hiroshi) (70206986)	国際医療福祉大学・福岡薬学部・教授 (32206)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関