

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年5月15日現在

機関番号：14501

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2017～2018

課題番号：17K19457

研究課題名（和文）社会挫折ストレスによるミクログリア活性化を担う遺伝子発現制御機構の解明

研究課題名（英文）Elucidation of mechanisms for regulating gene expression underlying social defeat stress-induced microglial activation

研究代表者

古屋敷 智之（FURUYASHIKI, Tomoyuki）

神戸大学・医学研究科・教授

研究者番号：20362478

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：社会からのストレスは抑うつなど情動変化を誘導し、精神疾患のリスク因子となるが、その実態には不明な点が多い。本研究ではマウスの社会挫折ストレスを用い、反復ストレスが自然免疫受容体TLR2/4を介して内側前頭前皮質のミクログリアを活性化し、神経突起退縮とともにうつ様行動を誘導することを示した。反復ストレス後の内側前頭前皮質のミクログリアとTLR2/4を刺激した培養ミクログリアで共通した発現変動を示す転写因子群を同定し、その機能を培養ミクログリアで解析した。また反復ストレス後の内側前頭前皮質のミクログリアでエピゲノム状態を網羅的に調べるための技術基盤を確立した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果は、ストレスによる情動変容にミクログリア活性化を中心とする脳内炎症反応が重要であることを世界に先駆けて立証し、ストレスによるミクログリア活性化・プライミングに関わる転写因子群の抽出にも成功した。さらにストレスによる脳内炎症のエピゲノム制御を網羅的に解析するための技術基盤を確立した。これらの成果はストレスによる脳機能変化の不可逆性の生物学的基盤に迫る点で学術的意義は大きく、また精神疾患創薬のための新たな標的を提示する点で社会的意義も大きい。

研究成果の概要（英文）：Social stress often induces emotional alterations such as depression, and can be a risk factor for mental illness. However, the mechanism remains elusive. Using a mouse model of social defeat stress, here we found that repeated stress exposure activates prefrontal microglia through innate immune receptors TLR2/4 and consequently leads to dendritic atrophy of prefrontal neurons and depression-like behavior. We also identified transcription factors whose expression was altered similarly in TLR2/4-stimulated cultured microglia and repeated stress-activated prefrontal microglia, and analyzed their functions in cultured microglia.

研究分野：薬理学、ストレス・精神疾患の橋渡し研究

キーワード：薬理学 神経科学 ストレス ミクログリア エピゲノム制御 転写因子

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

1. 研究開始当初の背景

社会的挫折や孤独から受けるストレスは、うつ状態や不安亢進など情動変化を引き起こし、うつ病など精神疾患のリスク因子となる。しかしストレスによる脳機能変化の分子・神経回路基盤には不明な点が多い。研究代表者らはマウスの社会挫折ストレスを用い、反復ストレスによる情動変容にミクログリアに由来する炎症関連分子が重要であることを示してきた。興味深いことに、ストレスによるミクログリアの活性化はストレスの反復により促進されるプライミング現象を示す。しかしストレスによるミクログリアの活性化・プライミングのメカニズムは不明であった。培養マクロファージでは自然免疫受容体 TLR4 の反復刺激が転写・エピゲノム制御を介して炎症性サイトカインの発現を促進することが知られている。そこで研究代表者らは、ストレスによるミクログリア活性化・プライミングにも同様のメカニズムが関与する可能性を推測した。

2. 研究の目的

マウスの社会挫折ストレスモデルと脳領域・細胞種選択的な遺伝子発現操作などを駆使し、反復ストレスによるミクログリアの活性化・プライミングのメカニズムを自然免疫受容体による転写・エピゲノム制御に着目して同定し、ストレスに着目した新たな精神疾患創薬戦略を提唱する。

3. 研究の方法

マウスの反復社会挫折ストレスモデルでは、C57BL/6 遺伝背景の成体雄マウスを体格が優位で攻撃性の強い ICR 遺伝背景の成体雄マウスからの攻撃に 1 日 10 分間、単回あるいは 10 回反復して暴露する。この反復ストレスは、新規マウスからの社会忌避行動、高架式十字迷路での不安様行動、attentional set shifting 課題における行動柔軟性の減弱といった多様なうつ様行動を誘導する。これらの行動変化の少なくとも一部が抗うつ薬の反復投与により改善することから、マウスうつ病モデルとして使われている。また単回ストレスでは社会忌避行動など主要な行動変化が起こらないことから、ストレスの反復が行動変化に重要である。

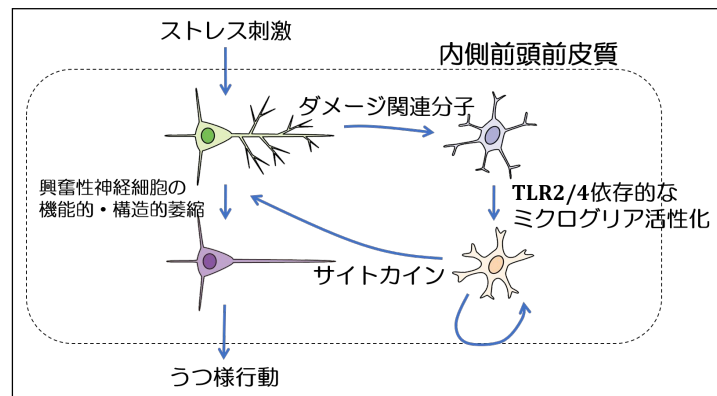
4. 研究成果

我々は反復社会挫折ストレス後の mPFC で S100A8 と S100A9 の mRNA 発現が亢進することを見出した。S100A8 と S100A9 はヘテロ二量体を形成し、自然免疫受容体の Toll-like receptor (TLR) 4 さらに TLR2 の内因性リガンドとして働くことが示唆されている。TLR2 と TLR4 の二重欠損マウス (TLR2/4 欠損マウス) では反復社会挫折ストレスによるうつ様行動が消失することを見出した。

このマウスでは、反復社会挫折ストレスによる mPFC 神経細胞の樹状突起退縮や応答性減弱も抑制された。TLR2/4 は脳内ではミクログリアに強く発現している。反復社会挫折ストレスは mPFC など特定の脳領域でミクログリアを活性化するが、このミクログリア活性化は TLR2/4 依存的であった。そこで TLR2/4 の発現を mPFC のミクログリアに選択的に抑制したところ、反復社会挫折ストレスによるうつ様行動は消失した。mPFC のミクログリアに選択的な網羅的遺伝子発現解析では、反復社会挫折ストレスは TLR2/4 依存的に炎症性サイトカインである TNF α と IL1 α の発現を誘導していた。さらにこれらの分子の中和抗体を mPFC に注入すると、反復社会挫折ストレスによるうつ様行動が消失した。これらの結果は、反復社会挫折ストレスが自然免疫受容体の TLR2/4 を介して mPFC のミクログリアを活性化し、mPFC 神経細胞の樹状突起退縮や応答性減弱、うつ様行動を誘導することを示している (図)。

反復ストレスによる mPFC のミクログリア活性化を担う転写因子を絞り込むため、網羅的遺伝子発現解析の結果から、反復ストレス後に mPFC のミクログリアで TLR2/4 依存的に発現が変化する転写因子群を同定した。培養ミクログリアで TLR2/4 を刺激したときの当該転写因子群の発現変動を調べ、反復ストレス後の mPFC ミクログリアと培養ミクログリアで共通した変動を示す転写因子群を絞り込んだ。これらの転写因子群を培養ミクログリアで過剰発現し、TLR2/4 刺激による炎症性サイトカインの発現に影響するものを同定した。今後はこの転写因子が反復ストレスによる mPFC のミクログリア活性化・プライミングや情動変容に関与するかを検討することが重要である。

ストレスによるミクログリアの活性化は mPFC など特定の脳領域で誘導されることから、特定の脳領域のミクログリアに選択的なエピゲノム解析が必要となる。エピゲノム状態を網羅的に調べるにはクロマチン免疫沈降シーケンス技術が必要となるが、従来の方法では感度が十分ではなかった。我々はこの技術を最適化し、セルソートにより単離した mPFC のミクログリアで当該技術を実施できる条件を確立した。現在この技術を用いて反復ストレス後の mPFC のミ



クログリアでのエピゲノム解析を進めている。今後この解析結果から、反復ストレスによるミクログリア活性化・プライミングに伴うエピゲノム制御が同定されることが期待される。

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 17 件)

1. Furuyashiki T, Akiyama S, Kitaoka S. Roles of multiple lipid mediators in stress and depression. *Int Immunol* Epub ahead of print (2019). doi: 10.1093/intimm/dxz023. (査読有)
2. Okamura S, Nagai H, Numa C, Nagai M, Shinohara R, Furuyashiki T. Social defeat stress induces phosphorylation of extracellular signal-regulated kinase in the leptomeninges in mice. *Neuropsychopharmacol Rep* Epub ahead of print (2019). doi: 10.1002/npr2.12051. (査読有)
3. Ano Y, Ayabe T, Ohya R, Kondo K, Kitaoka S, Furuyashiki T. Tryptophan-tyrosine dipeptide improves memory modulating the dopamine system. *Nutrients* 11, pii: E348 (2019). doi: 10.3390/nu11020348. (査読有)
4. Ano Y, Hoshi A, Ayabe T, Ohya R, Uchida S, Yamada K, Kondo K, Kitaoka S, Furuyashiki T. Iso- α -acids, the bitter components of beer, improve hippocampus-dependent memory through vagus nerve activation. *FASEB J* Epub ahead of print (2019). doi: 10.1096/fj.201801868RR. (査読有)
5. Nie X, Kitaoka S, Tanaka K, Segi-Nishida E, Imoto Y, Ogawa A, Nakano F, Tomohiro A, Nakayama K, Taniguchi M, Mimori-Kiyosue Y, Kakizuka A, Narumiya S, Furuyashiki T. The innate immune receptors TLR2/4 mediate repeated social defeat stress-induced social avoidance through prefrontal microglial activation. *Neuron* 99, 464-479 (2018). doi: 10.1016/j.neuron.2018.06.035. (査読有)
6. Higashida S, Nagai H, Nakayama K, Shinohara R, Taniguchi M, Nagai M, Hikida T, Yawata S, Ago Y, Kitaoka S, Narumiya S, Furuyashiki T. Repeated social defeat stress impairs attentional set shifting irrespective of social avoidance and increases female preference associated with heightened anxiety. *Sci Rep* 8, 10454 (2018). doi: 10.1038/s41598-018-28803-1. (査読有)
7. Sumitomo A, Yukitake H, Hirai K, Horike K, Ueta K, Chung Y, Warabi E, Yanagawa T, Kitaoka S, Furuyashiki T, Narumiya S, Hirano T, Niwa M, Sibille E, Hikida T, Sakurai T, Ishizuka K, Sawa A, Tomoda T. Ulk2 controls cortical excitatory-inhibitory balance via autophagic regulation of p62 and GABAA receptor trafficking in pyramidal neurons. *Hum Mol Genet* 27, 3165-3176 (2018). doi: 10.1093/hmg/ddy219. (査読有)
8. Shinohara R, Taniguchi M, Ehrlich AT, Yokogawa K, Deguchi Y, Cherasse Y, Lazarus M, Urade Y, Ogawa A, Kitaoka S, Sawa A, Narumiya S, Furuyashiki T. Dopamine D1 receptor subtype mediates acute stress-induced dendritic growth in excitatory neurons of the medial prefrontal cortex and contributes to suppression of stress susceptibility in mice. *Mol Psychiatry* 23, 1717-1730 (2018). doi: 10.1038/mp.2017.177. (査読有)
9. Ota H, Katanosaka K, Murase S, Furuyashiki T, Narumiya S, Mizumura K. EP2 receptor plays pivotal roles in generating mechanical hyperalgesia after lengthening contractions. *Scand J Med Sci Sports* 28, 826-833 (2018). doi: 10.1111/sms.12954. (査読有)
10. Ibi M, Liu J, Arakawa N, Kitaoka S, Kawaji A, Matsuda KI, Iwata K, Matsumoto M, Katsuyama M, Zhu K, Teramukai S, Furuyashiki T, Yabe-Nishimura C. Depressive-like behaviors are regulated by NOX1/NADPH oxidase by redox modification of NMDA receptor 1. *J Neurosci* 37, 4200-4212 (2017). doi: 10.1523/JNEUROSCI.2988-16.2017. (査読有)
11. 永井裕崇, 古屋敷智之. 「ストレスによる脳組織リモデリング：神経形態変化と炎症反応」の章担当. *Clinical Neuroscience*, 36 巻 1421-1424 ページ (2018). (査読無)
12. 轟翔, 北岡志保, 永井裕崇, 古屋敷智之. 「アラキドン酸」の項担当. *脳科学辞典* <http://bsd.neuroinf.jp/wiki/アラキドン酸> (2018). (査読有)
13. 谷口将之, 篠原亮太, 古屋敷智之. 「ストレス抵抗性における内側前頭前皮質ドバミン系の役割と神経細胞形態変化の関与」の章担当. *日本生物学的精神医学会誌*, 29 巻 27-33 ページ (2018). (査読無)
14. 古屋敷智之. 「次世代の薬理学を担う根本問題を探して」の章担当. *日本薬理学雑誌*, 151 巻 91-92 ページ (2018). (査読無)
15. 北岡志保, 古屋敷智之. 「ストレスによる脳内炎症：現在の理解と今後の展望」の章担当. *炎症と免疫*, 26 巻 73-77 ページ (2018). (査読無)
16. 北岡志保, 古屋敷智之. 「ストレス・うつにおける炎症反応の役割」の章担当. *ファルマシア*, 53 巻 681-685 ページ (2017). (査読無)
17. 北岡志保, 古屋敷智之. 「ストレスによる情動変容の誘導における炎症の役割」の章担当. *心身医学*, 57 巻, 922-928 ページ (2017). (査読無)

[学会発表](計 38 件)

1. 古屋敷智之 「Roles of the innate immune receptors TLR2/4 in stress-induced behavioral changes」第 2 回山梨大学先端脳科学特別教育プログラム国際シンポジウム, 2018 年 11 月 29 日, 山梨大学大村記念ホール (甲府市). 【招待】
2. 古屋敷智之 「Roles of neuroinflammation in stress-induced behaviors」Young Glia, 2018 年 10 月

- 1 日, Technik Museum Speyer (独国 Speyer).
3. 古屋敷智之「Biphasic morphological and behavioral effects of social defeat stress」神戸大学シグナル伝達医学シンポジウム「The cutting edge of basic and translational neuroscience」, 2018 年 7 月 9 日, 神戸大学医学部神緑会館(神戸市).
 4. 古屋敷智之「Roles and actions of neural inflammation-related molecules in repeated social defeat stress-induced behavioral changes in mice」第 18 回国際基礎臨床薬理学会・シンポジウム, 2018 年 7 月 4 日, 京都国際会館(京都市).
 5. 古屋敷智之「The expanding role of prostaglandins in the brain: From sickness symptoms to stress-related behaviors」第 18 回国際基礎臨床薬理学会・ランチョンセミナー(小野薬品), 2018 年 7 月 3 日, 京都国際会館(京都市).【招待】
 6. 古屋敷智之「Molecular and neural circuit mechanisms underlying stress and resilience」The 4th RIKEN/Karolinska Institutet/SciLifeLab Joint Symposium, 2017 年 11 月 16 日, 神戸大学統合研究拠点(神戸市).【招待】
 7. 古屋敷智之「Repeated stress-induced shift from adaptive to maladaptive stress responses in the medial prefrontal cortex」神戸大学シグナル伝達医学シンポジウム「Translational Researches on Mental Illnesses」, 2017 年 7 月 25 日, 神戸大学医学部附属病院(神戸市).
 8. 古屋敷智之「大学人を目指す ~ 自問自答のすすめ ~」第 92 回日本薬理学会年会・若手薬理学研究者の未来に向けたキャリア形成セミナー, 2019 年 3 月 14 日, 大阪府立国際会議場(大阪市).【招待】
 9. 古屋敷智之「ストレス関連行動の脳科学と創薬への展望」第 1 回神戸大学・神戸薬科大学合同シンポジウム, 2019 年 2 月 22 日, 神戸大学医学研究科(神戸市).
 10. 古屋敷智之「Stress-induced prefrontal remodeling and its behavioral consequences」富山大学最先端脳科学セミナー, 2019 年 2 月 1 日, 富山大学医学部(富山市).【招待】
 11. 古屋敷智之「Stress-induced remodeling of prefrontal neurons in adult mice and its mechanisms」2018 年度遺伝研研究会「Circuit construction in the mammalian brain」, 2018 年 12 月 20 日, 国立遺伝学研究所(三島市).【招待】
 12. 古屋敷智之「Roles of microglia for repeated stress-induced behavioral changes」武田薬品工業リサーチ免疫ユニットシンポジウム, 2018 年 12 月 17 日, 武田薬品工業株式会社湘南研究所(藤沢市).【招待】
 13. 古屋敷智之「ストレスの脳科学と今後の展望」京都大学大学院医学研究科セミナー, 2018 年 11 月 20 日, 京都大学医学研究科(京都市).【招待】
 14. 古屋敷智之「ストレスによる脳機能変化 - ストレスを標的としたうつ病治療を目指して -」第 234 回生命科学フォーラム, 2018 年 11 月 9 日, 日本記者クラブ(東京都).【招待】
 15. 古屋敷智之「Stress-induced prefrontal remodeling and its behavioral consequences」筑波大学 IIS セミナー, 2018 年 10 月 31 日, 筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構(つくば市).
 16. 古屋敷智之「Stress-induced prefrontal remodeling and its molecular and cellular mechanisms」京都大学大学院医学研究科神経科学教育コース, 2018 年 10 月 22 日, 京都大学医学研究科(京都市).【招待】
 17. 古屋敷智之「ストレスによる情動変容を担う分子・神経回路基盤」和歌山県立医科大学・大学院医学研究科特別講義, 2018 年 10 月 19 日, 和歌山県立医科大学(和歌山市).【招待】
 18. 古屋敷智之「社会挫折ストレスによる情動変容と自然免疫系の関与」2018 年度遺伝研研究会「遺伝要因と環境要因の相互作用による行動決定のメカニズム」, 2018 年 9 月 28 日, 国立遺伝学研究所(三島市).【招待】
 19. 古屋敷智之「ストレスによる情動変容を司る脳組織リモデリング」第 3 回疾患神経科学研究会, 2018 年 9 月 2 日, 富士フィルム和光純薬湯河原研修所(熱海市).【招待】
 20. 古屋敷智之「社会的ストレスの脳機能への影響の多様性と分子・神経回路基盤」第 2 回和光 - 精神神経懇話会, 2018 年 8 月 26 日, 富士フィルム和光純薬湯河原研修所(熱海市).【招待】
 21. 古屋敷智之「社会挫折ストレスによる脳内の組織学的変化とその役割」第 43 回組織細胞化学講習会・ランチョンセミナー, 2018 年 8 月 3 日, なら 100 年会館(奈良市).【招待】
 22. 古屋敷智之「Roles and activation mechanisms of innate immunity pathway in the medial prefrontal cortex in repeated social defeat stress」第 41 回日本神経科学大会・シンポジウム, 2018 年 7 月 29 日, 神戸コンベンションセンター(神戸市).【招待】
 23. 古屋敷智之「ストレスとうつ病を科学する」全国大学保健管理協会近畿地方部会・保健師看護師班研究集会・総会特別講演, 2018 年 7 月 26 日, 神戸大学百年記念館(神戸市).【招待】
 24. 古屋敷智之「ストレスによるこころの変化を担うメカニズムと精神疾患創薬への可能性」神戸大学・徳島大学・兵庫県立大学合同シンポジウム「産学連携による国際的卓越研究拠点の創設とその未来」先端研究発表, 2018 年 6 月 15 日, 神戸大学医学部会館シスメックスホール(神戸市).
 25. 古屋敷智之「ストレスによる情動変容を担う分子・神経回路基盤」徳島大学選定クラスター「難治性神経・精神疾患克服を目指す脳科学研究クラスターの形成と共同研究ネットワークの構築」講演会・特別講演, 2018 年 2 月 19 日, 神山温泉(徳島県).【招待】
 26. 古屋敷智之「薬理学者から見た医学研究の展望」2017 年度生命科学系学会合同年次大会

- (ConBio2017)「次世代 MD scientist が世界で活躍するために為すべきこと」, 2017年12月9日, 神戸国際会議場(神戸市).【招待】
27. 古屋敷智之「Roles of neuroinflammation in repeated stress-induced behavioral changes」第22回グリア研究会・ランチョンセミナー, 2017年12月2日, ミッドランドスクエア(名古屋市).【招待】
 28. 古屋敷智之「ストレスとレジリエンスを司る分子・神経回路基盤と創薬への可能性」大日本住友製薬株式会社講演, 2017年11月9日, 住友化学12号館(大阪市).【招待】
 29. 古屋敷智之「ストレスとレジリエンスを司る分子・神経回路基盤と創薬への可能性」第137回日本薬理学会関東部会・特別講演, 2017年10月28日, 日本医科大学(東京都).【招待】
 30. 古屋敷智之「ストレス抵抗性とその破綻を司る内側前頭前皮質神経回路の再編成」生理学研究所研究会「先天的と後天的なメカニズム融合による情動・行動の理解と制御」, 2017年10月10日, 生理学研究所(東岡崎市).【招待】
 31. 古屋敷智之「ストレスとレジリエンスを司る分子・神経回路基盤と創薬への可能性」, 神戸ポートアイランド創薬フォーラム, 2017年10月2日, 神戸臨床研究情報センター(神戸市).【招待】
 32. 古屋敷智之「動物モデルを用いたストレスの分子・細胞バイオマーカーの探索と臨床応用への可能性」第39回日本生物学的精神医学会・第47回日本神経精神薬理学会合同年会2017・シンポジウム, 2017年9月30日, 札幌コンベンションセンター(札幌市).【招待】
 33. 古屋敷智之「ストレスによる情動変容とレジリエンスを司る脳内基盤」国立精神・神経医療研究センター疾病研究第三部・気分障害先端治療センター講演, 2017年9月26日, 国立精神・神経医療研究センター(東京都).【招待】
 34. 古屋敷智之「The interaction between prefrontal and monoaminergic functions under repeated social defeat stress」第60回日本神経化学学会大会・シンポジウム, 2017年9月7日, 仙台国際センター(仙台市).【招待】
 35. 古屋敷智之「ストレスとレジリエンスを司る分子・神経回路基盤」第4回包括的緩和医療科学学術研究会・第5回Tokyo疼痛緩和次世代研究会合同研究会, 2017年8月27日, 品川区(東京都).【招待】
 36. 古屋敷智之「ストレス抵抗性とその破綻を司る分子・神経回路基盤」キリン株式会社 R&D本部・健康技術研究所講演, 2017年8月23日, キリン株式会社 R&D本部・健康技術研究所(横浜市).【招待】
 37. 古屋敷智之「A role of TLR-mediated neuroinflammation in repeated social defeat stress」第40回日本神経科学大会・シンポジウム, 2017年7月22日, 幕張メッセ(千葉県).
 38. 古屋敷智之「文理融合による「こころの生涯健康学」研究の創成」神戸大学先端融合研究環新規プロジェクトキックオフシンポジウム, 2017年5月15日, 神戸大学百年記念館(神戸市).

6. 研究組織

(1)研究分担者

該当なし

(2)研究協力者

該当なし

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。