

令和 3 年 6 月 7 日現在

機関番号：13401

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K15511

研究課題名(和文) 情動変化を呈したモデル動物における酸化ストレスの全脳的評価

研究課題名(英文) evaluation of whole brain by oxidative stress in model animal that present with emotional change

研究代表者

水野 智之(Mizuno, Tomoyuki)

福井大学・学術研究院医学系部門(附属病院部)・講師

研究者番号：60626357

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、6週齢の健常ラット、および6週齢(うち最後の2週は亜鉛欠乏食を投与)の亜鉛欠乏ラット、の二群において、酸化ストレスという観点から有意差が得られるかについて、実験および考察を行った。血中における核酸由来の酸化ストレス物質である8-OHdGは、健常群で高値の傾向を認め、血中における脂質由来の酸化ストレス物質である8-isoprostanesは、亜鉛欠乏群において有意差をもって高値を示した。また、<sup>64</sup>Cu-ATSMという核種を用いた全脳部位のイメージング検査を行ったところ、群間差は部位別にみても全く認められなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

免疫染色法による酸化ストレス物質の測定は実験動物において従来の研究で行われていたが、酸化ストレスを実験動物において核医学的手法を用いて脳の領域別にみる試みは、これまでなされたことがなかった。想定していた結果は得られなかったが、上記の領域に足を踏み入れることができたことは一つの成果であると考えられる。亜鉛欠乏や社会的孤立が生体に及ぼす影響は、酸化スと考えられる。

研究成果の概要(英文)：We have studied the degree of oxidative stress in 6-week old rats. Rats were divided into two groups, control group, 2-week zinc deficient diet group. We analyzed 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) levels and 8-isoprostanes levels in blood. 8-OHdG was higher tendency in control group. On the other hand, 8-isoprostanes was higher in zinc deficient diet group. And we evaluate oxidative stress of whole brain by <sup>64</sup>Cu-ATSM which is a potential imaging agent of hypoxic tissue. As a result, we found no difference between groups.

研究分野：生物学的精神医学

キーワード：酸化ストレス 亜鉛欠乏 放射線核医学

## 1. 研究開始当初の背景

うつ病は、個人の生活の質や社会機能に大きな影響を及ぼす代表的な疾患の一つである。病気や障害などが社会にダメージを与える指標である障害調整生命年が、うつ病は日本においてがんに次いで2位となっている(WHO)。これだけ重要な疾患でありながら、うつ病の病態はいまだ解明されていない。モノアミン神経系の機能異常<sup>1)</sup>や視床下部 下垂体 副腎皮質系を介した内分泌系の調節障害などが病態の主要な一因子として提唱され、現時点ではそれらが複合的に作用してうつ状態を引き起こすともされているが<sup>2)</sup>、詳細は不明である。

近年、悪性腫瘍、心血管疾患、糖尿病などの発症や症状増悪に重要な働きを担うことが知られている酸化ストレス<sup>3)</sup>は、うつ病をはじめ認知症や統合失調症<sup>4)</sup>などの精神疾患にも関与していることが明らかとなりつつある<sup>5)</sup>。脳は他の臓器にくらべ酸素利用率が高いことから、細胞の脂質、蛋白質やDNAへのダメージを引き起こす酸化ストレスには非常に脆弱であり、精神疾患においては特に重要な働きを担っていると考えられる。しかし現時点でのうつ病の病態仮説では、酸化ストレスはそのごく一部分を担っているとされるに留まっている<sup>2)</sup>。必須生体微量元素である亜鉛の欠乏という栄養上の問題や、社会的孤立という生活環境上のストレスに特に若年期よりさらされると、どちらもうつ状態が引き起こされることが知られている<sup>6),7)</sup>。

うつ病は躁うつ病とともに気分障害に分類されるが、それぞれ異なる薬物療法(抗うつ剤および気分安定薬)を行うことが推奨されている。しかし、うつ病に対して抗うつ薬を投与すると躁状態が引き起こされ、気分安定薬の使用で状態が改善して診断がうつ病から躁うつ病に変更されることがしばしばある。このことから、うつ病と躁うつ病は全く異なる疾患ではなく、ある程度共通した病態を有するのかもしれない。

我々の研究グループはこれまでに、亜鉛欠乏や社会的孤立が情動に与える影響を、実験動物を用いて研究してきた。亜鉛欠乏、社会的孤立をそれぞれ成育期のラットに単独で負荷すると、これまでの報告どおり、うつ様行動や不安様行動が出現してうつ様状態となることが示唆された。ところが、両者を同時に負荷すると、うつ様行動と不安様行動はさらに増強するのではなく、逆に減弱して躁様状態を呈した<sup>8)</sup>。亜鉛欠乏と社会的孤立は、いずれも酸化ストレスを増大させることが報告されおり<sup>9),10)</sup>、我々のこれまでの研究の結果を踏まえて考えると、亜鉛欠乏や社会的孤立により酸化ストレスが加わるとうつ様状態を呈するが、両者を同時に負荷して酸化ストレスがさらに増強すると躁様状態を呈するとの仮説が考えられた。

我々の仮説では、躁状態はうつ状態の反対ではなく、酸化ストレスがうつ状態以上に増大した状態ということになる。モノアミン仮説をはじめとするこれまでの気分障害の病態についての仮説とは全く異なる新たな仮説である。

酸化ストレスは、これまでに主に血中や尿中の酸化ストレスマーカー(8-OHdGやF2-isoprostanesなど)の変化から評価されてきた<sup>11)</sup>。一方で、気分障害には脳の様々な部位における機能変化の関与が想定されており、その病態解明には酸化ストレスを脳の各部位で比較する必要があると考えられる。我々の共同研究グループは、生体の酸化ストレスを画像化するPETトレーサーである[<sup>64</sup>Cu]-diacetyl-bis(N4-methylthiosemicarbazone) (<sup>64</sup>Cu-ATSM)を開発してきた。<sup>64</sup>Cu-ATSMはヒトへの投与も行われており<sup>12),13),14)</sup>、本研究も将来的にはヒトを対象とした臨床研究に発展させたいと考えている。

## 2. 研究の目的

実験動物に対して亜鉛欠乏、社会的孤立を成育期に単独または同時に負荷した際の脳内の酸化ストレスを評価して、これまでの情動に関する行動解析の結果と比較することである。さらに、これらの負荷に対してうつ病治療薬(抗うつ薬)、躁うつ病治療薬(気分安定薬)を投与した時の行動変化や酸化ストレスの変化を評価して、うつ病と躁うつ病の疾患類似性や治療の妥当性を検討する。

### 3. 研究の方法

3週齢のWistar ratを搬入し、1週間後に食餌を普通食から亜鉛欠乏食に切り替えてさらに2週間飼育した。その後、生体の酸化ストレスを画像化するPETトレーサーである $^{64}\text{Cu}$ -diacetyl-bis(N4-methylthiosemicarbazone) ( $^{64}\text{Cu}$ -ATSM)を用いたオートラジオグラフィを施行した。実験動物に $^{64}\text{Cu}$ -ATSMを静脈投与し、1時間後に脳組織を取り出して薄切脳切片を作成した。それらをイメージングプレートに露光し、画像読み取り装置でスキャンして得られた画像から $^{64}\text{Cu}$ -ATSMの取り込みを定量した。また、血液サンプルを採取して、酸化ストレスのバイオマーカーである8-OH 2-deoxyguanosine (8-OHdG)およびF2-isoprostanesの濃度を測定した。

### 4. 研究成果

コントロール群と比べて亜鉛欠乏群では、血中のF2-isoprostanesは有意に上昇していたが、8-OHdGは低下傾向であった。また、 $^{64}\text{Cu}$ -ATSMの取り込みは、解析したすべての脳部位(前頭葉皮質、線条体、視床、海馬)において有意な差は認められなかった。

今回得られた結果から、亜鉛欠乏群で双方とも上昇すると考えられた酸化ストレスマーカー2種の挙動に違いがあること、ラット脳において $^{64}\text{Cu}$ -ATSMの取り込みの部位別評価が可能であることが確かめられた。前者については、亜鉛欠乏食の投与開始期間や期間の長さを変更することで、この2種の挙動がどのように変化していくのかを今後確認することが必要であると考えられた。また後者については、これまでラット脳における $^{64}\text{Cu}$ -ATSMの取り込みをオートラジオグラフィ法により脳での部位差を確認する手法が確立されておらず報告例もなかったため、その嚆矢となる貴重な知見である。今後は、酸化ストレス評価のために様々なモデル動物において本手法が応用されることが期待できる。

### <引用文献>

1. Belmaker RH, Agam GN. Major depressive disorder. *Engl J Med*. 2008;358(1):55-68.
2. Stuart MJ, Baune BT. Depression and type 2 diabetes: inflammatory mechanisms of a psychoneuroendocrine co-morbidity. *Neurosci Biobehav Rev*. 2012;36(1):658-76.
3. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*. 2007;39(1):44-84.
4. Koga M, Serritella AV, Sawa A, Sedlak TW. Implications for reactive oxygen species in schizophrenia pathogenesis. *Schizophr Res*. 2016;176(1):52-71.
5. Rodrigues R, Petersen RB, Perry G. Parallels between major depressive disorder and Alzheimer's disease: role of oxidative stress and genetic vulnerability. *Cell Mol Neurobiol*. 2014;34(7):925-49.
6. Irmisch G, Schlaefke D, Richter J. Zinc and fatty acids in depression. *Neurochem Res*. 2010;35(9):1376-83.

7. Weiss IC, Pryce CR, Jongen-Rêlo AL, Nanz-Bahr NI, Feldon J. Effect of social isolation on stress-related behavioural and neuroendocrine state in the rat. *Behav Brain Res.* 2004;152(2):279-95.
8. 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.* 2015;284:125-30.
9. Eide DJ. The oxidative stress of zinc deficiency. *Metallomics.* 2011;3(11):1124-9.
10. Shao Y, Yan G, Xuan Y, Peng H, Huang QJ, Wu R, Xu H. Chronic social isolation decreases glutamate and glutamine levels and induces oxidative stress in the rat hippocampus. *Behav Brain Res.* 2015;282:201-8.
11. Black CN, Bot M, Scheffer PG, Cuijpers P, Penninx BWJH. Is depression associated with increased oxidative stress? A systematic review and meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology.* 2015;51:164-75.
12. Ikawa M, Okazawa H, Arakawa K, Kudo T, Kimura H, Fujibayashi Y, Kuriyama M, Yoneda M. PET imaging of redox and energy states in stroke-like episodes of MELAS. *Mitochondrion.* 2009;9(2):144-8.
13. Yoshii Y, Yoneda M, Ikawa M, Furukawa T, Kiyono Y, Mori T, Yoshii H, Oyama N, Okazawa H, Saga T, Fujibayashi Y. Radiolabeled Cu-ATSM as a novel indicator of overreduced intracellular state due to mitochondrial dysfunction: studies with mitochondrial DNA-less p0 cells and cybrids carrying MELAS mitochondrial DNA mutation. *Nucl Med Biol.* 2012;39(2):177-85.
14. Ikawa M, Okazawa H, Tsujikawa T, Matsunaga A, Yamamura O, Mori T, Hamano T, Kiyono Y, Nakamoto Y, Yoneda M. Increased oxidative stress is related to disease severity in the ALS motor cortex: A PET study. *Neurology.* 2015;84(20):2033-9.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 水野智之
2. 発表標題 亜鉛欠乏ラットにおける64Cu-ATSMを用いた脳内酸化ストレス評価
3. 学会等名 第38回 躁うつ病の薬理・生化学的研究懇話会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------