

令和 4 年 5 月 25 日現在

機関番号：32666

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06961

研究課題名(和文) うつ病の新規病態仮説としての神経脱成熟障害仮説の検証

研究課題名(英文) Research on neuronal dematuration disorder hypothesis of depression

研究代表者

小林 克典 (Kobayashi, Katsunori)

日本医科大学・医学部・准教授

研究者番号：10322041

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：研究代表者は、抗うつ薬によってマウス海馬神経細胞が未成熟様に変化する「脱成熟」現象を発見した。本研究では、生理的に生じる脱成熟の異常が、うつ病の病態に寄与する可能性を検討した。個別飼育したマウスに慢性ストレスを負荷すると、活動量の持続的な低下が見られた。運動をさせながら抗うつ薬を投与すると、ストレス負荷したマウスでは脱成熟が生じ、活動量が回復したが、対照群のマウスでは脱成熟は生じなかった。豊かな環境で飼育すると、脱成熟様の変化が誘導され、ストレスによって軽度の行動変化が生じた。以上より、脱成熟が起きにくい環境条件では、ストレスによる行動異常が起きやすいことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果はうつ病の病態解明と克服に貢献すると考えられる。本研究で観察した神経機能変化のメカニズムや、変化を生じさせる生体内外要因の理解がさらに進めば、うつ病の予防方法や治療方法の改善に結びつく知見が得られると期待される。特に、ストレスを受けた際に、それを弾き返してうつ病にならないようにする力、つまりレジリエンスを高める方法の開発や、生活習慣の提案に結びつくと考えられる。

研究成果の概要(英文)：I have previously shown that antidepressant treatment induces dematuration, a change in neuronal phenotypes to an immature-like state, in the mouse hippocampus. In the present study, I have examined a possibility that impairment of physiological dematuration underlies the pathophysiology of depression. Chronic stress caused a sustained decrease in cage activity of mice housed in isolation. Antidepressant treatment combined with exercise induced dematuration in the stressed mice, but not in control mice, and restored the cage activity. Environmental enrichment induced dematuration-like changes in neuronal functions. Chronic stress had minor effects on behavior of mice housed in enriched environment. These results suggest that the induction of dematuration depends on environmental conditions, and that mice are more susceptible to stress-induced behavioral impairment when housed in environmental conditions that do not facilitate the induction of dematuration.

研究分野：神経生理学

キーワード：脳・神経 うつ病 海馬

## 1. 研究開始当初の背景

うつ病は精神疾患の中でも有病率が高く、深刻な社会問題となりつつあるが、未だにその病態や治療メカニズムは解明されていない。モノアミン仮説をはじめとして病態仮説は数多く存在するが、病態と治療効果を無理なく説明できる仮説は現時点では存在しない。また、動物モデルを用いた基礎研究においては、妥当性に問題のあるうつ病モデルや行動評価系も多く使用されており、しばしば議論的となっている。うつ病の完全な理解と克服を目差すには、仮説とそれを検証するモデルを含めて、従来とは異なる観点からの見直しが必要と考えられる。研究代表者は、抗うつ薬を慢性投与したマウスにおいて、成熟海馬神経細胞の機能や遺伝子発現パターンが未成熟細胞様に変化する「脱成熟」現象を世界で初めて報告した(Kobayashi et al., PNAS, 2010)。さらに、うつ病の電気痙攣療法を模した電気痙攣刺激(ECS)でも同様の脱成熟が起きることを示した(Imoto et al., Mol Brain, 2017)。これらの異なる処置が同様に脱成熟を誘導するという事実は、脱成熟が両処置に共通する抗うつ作用の基盤であることを示唆する。脱成熟はシナプス伝達や興奮性等の生理学的機能の顕著な変化を伴うため、脳機能に大きな影響を及ぼし得る。しかし、うつ病のどのような病態がこの脱成熟によって改善されるかが説明困難であった。最近の解析によって、通常健康なマウスでは豊かな飼育環境の変化によって、脱成熟様の変化が生じることを示す結果を得た。つまり、ある程度の脱成熟は、生理的な刺激によって容易に脳内で起きると考えられる。このような生理的な脱成熟が障害された状態がうつ病の病態で、抗うつ薬や電気痙攣療法は障害された機構をレスキューして治療効果を発揮すると考えると、うつ病の病態と治療が無理なく説明できる。このうつ病の神経脱成熟障害仮説の検証は、うつ病研究に新たな視点を導入し、当該分野にブレークスルーをもたらす可能性がある。

## 2. 研究の目的

本研究では、うつ病の新規病態仮説である神経脱成熟障害仮説を検証することを目的とし、そのための新規動物モデルの開発と既存モデルの再検証、ならびに新規行動評価系の開発を一体として進める。

## 3. 研究の方法

### (1) 生理的脱成熟の障害を示すモデルのスクリーニング

既存のうつ病モデルマウスならびに新規モデルを豊富環境で飼育し、一定期間飼育後に海馬歯状回神経細胞の成熟度の変化を検討する。神経成熟度の変化は、過去に確立した、神経機能の電気生理学的解析と成熟ステージマーカー発現解析を組み合わせた手法を用いて判定する。

豊富環境飼育で脱成熟が生じることを確認し、脱成熟誘導に必要な最短及び最適期間を検討する。

既存のうつ病モデルマウスを用いて、豊富環境における脱成熟の誘導能を検討する。脱成熟の障害が確認されたモデルについては、抗うつ薬又はECSによるレスキューを試みる。

抗うつ薬とECSの共通シグナル経路として脂質生合成経路が示唆されているため、酵素阻害薬投与などによってコレステロール生合成経路を操作したマウスを作製し、同様の解析を行う。

### (2) うつ様行動の新規評価系の確立

生理的脱成熟の障害が確認されたモデルマウスの行動を解析する。興味や快楽の喪失(anhedonia)はうつ病の主要な症状の一つである(DSM-5)。本研究では豊富環境の集団飼育下でのanhedonia検出の実験系確立を試みる。

マウスの皮下にRFID(radio frequency identifier)プローブを埋め込み、集団飼育下での個体識別を可能にし、通常環境と豊富環境のコンパートメントに分かれた特殊ケージで飼育する。RFIDを用いてコンパートメント間の移動をモニターし、飼育ケージ内における探索的行動を定量化する。探索行動の低下をもってanhedoniaの指標とする。

探索行動の低下が観察されたモデルについて、抗うつ薬投与による行動の回復を検討する。さらに、抗うつ薬による脱成熟が抑制されている5-HT<sub>4</sub>受容体欠損マウスを用いて、行動の回復と脱成熟との関連を解析する。

これまでに解析されてきたうつ様行動と、通常ケージにおける活動量なども検討し、本研究の評価系の妥当性ならびに他の評価系との整合性を検討する。

### (3) うつ様行動に関する責任部位の同定

AAVを用いてうつ様行動発現に関与する責任部位を同定し、脱成熟と行動変化の因果関係を解析する。Chol生合成経路の酵素を、AAVを用いたshRNAの発現によって海馬歯状回特異的にノックダウンし、豊富環境での探索行動低下と脱成熟の障害が生じるかどうかを解析する。さらに、モデルマウスを用いて酵素の過剰発現による脱成熟と探索行動のレスキューを試みる。Chol生合成と脱成熟の関係が明らかでない場合は、抗うつ薬又はECSによる脱成熟に必要な、5-HT<sub>4</sub>受容体又はNMDA受容体のノックダウンを行う。

#### 4. 研究成果

(1) 通常の飼育環境と豊富環境で飼育したマウスの海馬神経細胞の成熟度変化を、飼育日数を追って電気生理学的に検討した。数日の飼育では両者の間に差は見られなかったが、一週間の飼育では豊富環境飼育したマウスにおいて神経成熟度の変化を示唆する変化が検出された。

(2) 拘束ストレスによるうつ病モデルを用いて海馬神経機能と行動の変化を解析した。マウスに4週間の慢性拘束ストレスを負荷したところ、一般に用いられるうつ様行動や不安様行動のテストでは有意な変化が見られなかったが、個別飼育下におけるケージ内活動の持続的な低下が見られた。海馬シナプス伝達とその修飾に関しては、通常の飼育下ではストレスの効果は見られなかったが、運動量を増加させた条件ではドパミン D1 受容体活性化によるシナプス修飾が顕著に増強された。さらに抗うつ薬による脱成熟誘導能を検討したところ、ストレス+運動群においてのみ誘導が確認された。ストレスによるケージ内活動量の低下は、運動と抗うつ薬の組み合わせによって D1 受容体依存的に抑制された。以上より、運動量を増加させた条件では、ストレスが海馬 D1 受容体シグナルを介して抗うつ薬による脱成熟ならびに行動に対する効果を促進することが示唆された。

(3) RFID タグを用いたコンパートメントケージにおける個体追跡実験を行った。各コンパートメントでの滞在時間、単独行動傾向などを定量化し、活動性、探索行動、社会行動などの指標となる行動データが取得可能になった。このシステムを用いて慢性ストレスの効果を検討したところ、活動性や探索行動の低下が見られたが、コントロール群との差がストレス期間中に徐々に低下した。この時、海馬神経細胞においては脱成熟に類似した神経機能変化が観察された。一方で、個別飼育でのストレス負荷は脱成熟と反対方向の神経機能変化を誘導する傾向が見られた。上記(2)の結果も考慮すると、ストレスは経験もしくは環境に依存して脱成熟を誘導する又は誘導を促進することが示唆された。さらに、同じストレス負荷でも、脱成熟が誘導されない環境条件では、行動の障害が顕著に生じることが示された。したがって、本研究計画の仮説を部分的に支持する結果が得られた。本研究では脱成熟に関するシグナルとしてコレステロール生合成経路に注目したが、この点については明確な結果が得られなかった。

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 2件）

1. 著者名 M. Asada-Utsugi, K. Uemura, M. Kubota, Y. Noda, Y. Tashiro, T. M. Uemura, H. Yamakado, M. Urushitani, R. Takahashi, S. Hattori, T. Miyakawa, N. Ageta-Ishihara, K. Kobayashi, M. Kinoshita, A. Kinoshita	4. 巻 14
2. 論文標題 Mice with cleavage-resistant N-cadherin exhibit synapse anomaly in the hippocampus and outperformance in spatial learning tasks	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular Brain	6. 最初と最後の頁 23
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13041-021-00738-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Katsunori Kobayashi, Yasunori Mikahara, Yuka Murata, Daiki Morita, Sumire Matsuura, Eri Segi-Nishida, Hidenori Suzuki	4. 巻 23
2. 論文標題 Predominant role of serotonin at the hippocampal mossy fiber synapse with redundant monoaminergic modulation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 101025
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci. 2020.101025	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小林克典、鈴木秀典
2. 発表標題 ノルアドレナリン作動性ドパミンD1受容体活性化による海馬シナプス修飾
3. 学会等名 日本神経科学大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小林克典
2. 発表標題 精神疾患のエンドフェノタイプとしての脳神経細胞の機能的成熟の異常
3. 学会等名 日本神経精神薬理学会
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
---------	---------