

令和 4 年 6 月 7 日現在

機関番号：32651

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08027

研究課題名（和文）脳に潜伏するウイルスがストレスレジリエンスに影響を及ぼす機構の解明

研究課題名（英文）Elucidating the mechanism by which a latent virus in the brain affects stress resilience

研究代表者

岡 直美（Oka, Naomi）

東京慈恵会医科大学・医学部・講師

研究者番号：00704503

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：ストレスレジリエンス低下のメカニズムを解明するために、ストレスレジリエンス低下うつ病モデルであるSITH-1発現マウスの表現型を解析した。その結果、ストレス応答経路の亢進を引き起こす脳部位の障害および、関与する神経経路を特定した。さらに、SITH-1発現マウスのストレスレジリエンス低下およびうつ病様行動といった表現型を改善する薬剤を特定する事に成功した。この薬剤は新規抗うつ薬の候補となり得る。

研究成果の学術的意義や社会的意義

私たちはストレスレジリエンスが低下している全く新しいうつ病モデル動物「SITH-1発現マウス」を作製し、このマウスの解析によってうつ病のメカニズムを解明しようと試みた。その結果、障害される神経経路を特定し、さらに治療薬候補となる薬剤も特定した。この薬剤はこれまでの抗うつ薬と全く異なるものであり、さらに効果が得られるまで短時間であることを特徴とする。本研究成果は、長年開発されていなかった新規抗うつ薬の開発に貢献するものであり、本研究成果の社会実装への道を模索したいと考えている。

研究成果の概要（英文）：To elucidate the mechanism of stress resilience reduction, we analyzed the phenotype of SITH-1 expressing mice, a model of stress resilience reduction and depression. As a result, we identified the brain regions that cause the enhancement of stress response pathways and the neural pathways involved. In addition, they succeeded in identifying a drug that ameliorates the phenotype of SITH-1-expressing mice with reduced stress resilience and depressive-like behavior. This drug may be a candidate for a new antidepressant drug.

研究分野：ウイルス学

キーワード：うつ病 ストレス 炎症 HHV-6 SITH-1 潜伏感染

1. 研究開始当初の背景

うつ病は莫大な経済損失をもたらすため、社会問題となっている。そのため、うつ病発症メカニズムの解明と同様に、うつ病の発症を未然に防ぐことも喫緊の課題である。

うつ病は過度なストレスが原因の一つであると考えられており、動物を用いたうつ病研究にも様々なストレスを与えたうつ病モデルが使用されている。しかし特にヒトの場合、ストレスレジリエンスに個人差があり、同程度のストレスでもうつ病を発症する人とならない人に分かれる。このような個人差を決定する最大の因子は遺伝子であると考えられるが、決定的な原因遺伝子は特定されていない。また近年、腸内細菌叢がストレスレジリエンスに影響を及ぼす報告がなされ、ヒトの生体内に長期間存在する共生生物も個人差を決定する因子であることが示唆された。しかし、うつ病に関係するストレスレジリエンスの個人差を十分に説明できる共生生物の同定には至っていない。このような状況から、ストレスレジリエンスに影響を及ぼすことでうつ病の発症に関与する共生生物は、腸内細菌以外にも存在するのではないかと考えた。

HHV-6は乳幼児期に罹患することが多い突発性発疹の原因ウイルスであり、感染成立後は潜伏感染し、成人のほぼ100%がHHV-6を保有している。私たちはHHV-6の潜伏感染に関する研究を行っており、潜伏感染しているHHV-6がストレスによって再活性化することを見出した。さらに中枢神経系に潜伏感染しているHHV-6は再活性化する際にSITH-1タンパク質を発現することを発見した。SITH-1タンパク質の機能を解析するために、SITH-1タンパク質をマウスに発現させたところ、うつ病様行動を示し、ストレスレジリエンスが低下していた。さらに、うつ病患者は抗SITH-1抗体を保持していたことから、私たちはヒトの体内に潜伏感染しているHHV-6が、腸内細菌と同様にストレスレジリエンスに影響を及ぼすことでうつ病の発症に関与するのではないかと考えた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、HHV-6由来のSITH-1タンパク質がストレスレジリエンスに影響を及ぼすメカニズムを明らかにし、うつ病の予防法および治療法の開発につなげることである。

3. 研究の方法

HHV-6由来のSITH-1タンパク質がストレスレジリエンスに影響を及ぼすメカニズムを解明するために、中枢神経系にSITH-1タンパク質を発現させたマウス(SITH-1発現マウス)の表現型を解析することにした。中枢神経系におけるSITH-1の発現がどの神経経路を介してストレスレジリエンスを低下させるのかを明らかにするために、下記の検討を実施した。

1) SITH-1発現マウスで観察されるストレス応答の亢進を引き起こす神経回路の同定

SITH-1発現マウスはストレス応答経路である「視床下部 下垂体 副腎系 (HPA軸)」が亢進していることが明らかになっている。従って、ストレスレジリエンスの低下はこのストレス応答の過剰な亢進が原因であると考えられる。そこで、HPA軸の亢進に関与する神経回路を特定するために、マウスの脳切片を作製し、グルタミン酸作動性ニューロンマーカー、ドーパミン作動性ニューロンマーカー、GABA作動性ニューロンマーカー等で染色した。

2) SITH-1発現マウスの脳内伝達物質の測定

上記1)の実験により、SITH-1発現マウスで変化している神経が特定された場合、その神経の伝達物質量を測定する。具体的には、SITH-1発現マウスおよび対照マウスの脳組織の可溶性画分を用いて市販のELISAキット等を用いて神経伝達物質量を測定した。

3) 特定した神経回路の賦活剤の影響

上記の実験により、SITH-1発現マウスにおける神経伝達物質の低下が示された。そこで、神経伝達物質を上昇させる薬剤Xを用いてSITH-1発現マウスの表現型が改善されるかどうかを検討した。具体的にはSITH-1発現マウスに薬剤Xを飲水投与し、尾懸垂試験、遺伝子発現解析、および脳切片の組織学的解析を実施した。

4. 研究成果

HHV-6由来のSITH-1タンパク質がストレスレジリエンスに影響を及ぼすメカニズムを解明するために、中枢神経系にSITH-1タンパク質を発現させたマウス(SITH-1発現マウス)の表現型を解析した。その結果、下記の成果を得ることができた。

1) うつ病患者および、SITH-1発現マウスで観察されるストレス応答経路「視床下部 下垂体 副腎系 (HPA軸)」の亢進を引き起こす脳部位の障害および、関与する神経経路を組織学的解析により特定した

SITH-1発現マウスの脳切片を作製し、各種神経伝達物質作動性神経マーカーで蛍光免疫染色を実施したところ、SITH-1発現マウスの大脳辺縁系および手綱核である神経伝達物質作動性ニューロンが有意に低下していることが明らかになった(図1)。

一方、他の神経伝達物質作動性ニューロンマーカーでの染色も試みたが、SITH-1発現マウ

スでの変化は観察されなかった。また、脳内神経伝達物質量を ELISA により測定した結果、対照マウスと比較して SITH-1 発現マウスで有意に神経伝達物質量が低下していた。

- 2) 神経伝達物質を上昇させる薬剤 X の投与により、SITH-1 発現マウスで観察されていたストレスレジリエンスの低下 (HPA 軸の亢進) およびうつ病様行動が改善されたが、脳部位の障害までは改善されなかった

特定した神経伝達物質を上昇させる薬剤 X が存在する。SITH-1 発現マウスに薬剤 X を飲水投与したマウスの HPA 軸の改善を検証するために、脳内遺伝子発現の解析を実施した。その結果、HPA 軸亢進を示す副腎 StAR の発現上昇および、脳内 CRH, FKBP5, REDD1 の発現上昇が薬剤 X 投与により改善していた (図 2)。組織学的解析においても、室傍核の CRH 陽性細胞数が増加していた。さらに、嗅球のアポトーシス誘導および海馬の神経新生低下も改善していた。

- 3) 同時に、SITH-1 発現マウスで障害される神経経路は抹消の炎症にも関与することが明らかとなり、ストレス関連疾患である炎症性腸疾患などの原因にもなることが示された

うつ病と炎症との関連は古くから良く知られており、炎症性疾患においてうつ病の併発率が高いこと、うつ病患者の抹消の炎症が高いことなどが報告されている。さらに近年、うつ病は脳内の神経炎症が原因であるとする神経炎症仮説が有力視されている。そこで、我々が開発した新しいうつ病モデルである SITH-1 発現マウスを用いて、末梢の炎症状態を解析した。その結果、SITH-1 発現マウスは大腸の長さが有意に短い事が明らかになった。これは、SITH-1 発現マウスが大腸で炎症を起こし易い可能性を示唆している。

そこで、SITH-1 発現マウスに炎症を引き起こすことで、どのような特徴を示すのか解析することにした。そのためにまず、5 日間の 3% DSS を SITH-1 発現マウスに飲水投与した。その結果、SITH-1 発現マウスは有意な体重減少を示し、腸内炎症も有意に高かった (図 3)。これは、SITH-1 の発現がマウスの炎症システムに影響を与えている事を示唆している。

以上の結果から、不足した神経伝達物質を上昇させるという薬剤 X の作用が SITH-1 発現マウスで観察されたうつ病様表現型の改善に効果的であることが示された。薬剤 X は、神経を修復させるような作用があるわけではないため、服用することで神経伝達物質を補充しながら神経修復を待つような治療法に適していると考えられる。薬剤 X はうつ病治療薬には用いられていない。しかしながら、うつ病様症状に効果があるという報告は存在するため、これまでにない新しいうつ病治療薬となる可能性がある。今後はこの薬剤が新たなうつ病治療薬、もしくは予防薬として利用できる可能性を探りつつ、効果的な受容体の種類を特定し、より副作用の少ない薬剤開発に繋げる予定である。

さらに、SITH-1 発現マウスは炎症システムの障害を受けているため、末梢での炎症レベルが高くなる事が示された。これはうつ病と炎症の関係を明らかにする一つの材料となる可能性があるため、この経路についても今後検証する予定である。

【参考文献】

1) Han JS. *et al.* 2002., 2) Y. Yamamoto *et al.* 2013., 3) Khalil H. *et al.* 2021., 4) Valentin A P. *et al.* 2003.

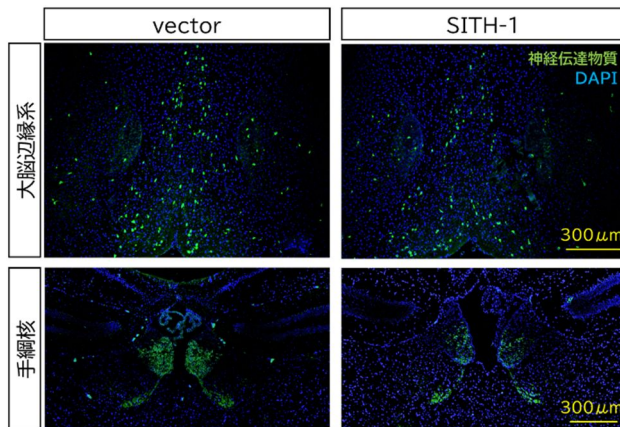


図 1 : 大脳辺縁系および手綱核における特定神経回路

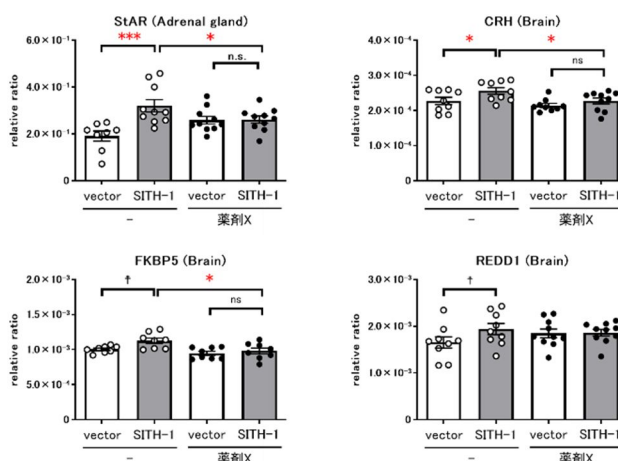


図 2 : 薬剤X投与によるSITH-1発現マウスのHPA軸亢進の改善

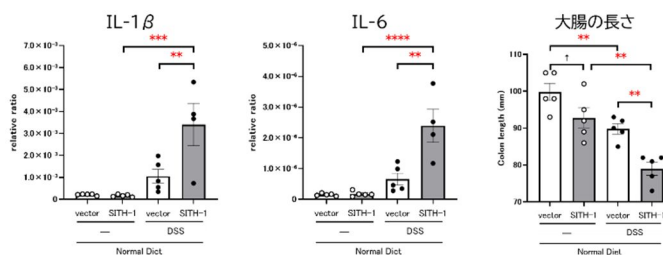


図 3 : SITH-1発現マウスの抗炎症システム障害による炎症の増悪

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小林伸行, 岡直美, 近藤一博
2. 発表標題 一般労働者における時間外労働時間の増加による唾液中ヒトヘルペスウイルス（HHV-6及びHHV-7）DNA量の低下
3. 学会等名 第15回 日本疲労学会総会・学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岡直美, 小林伸行, 石井梓, 近藤一博
2. 発表標題 うつ病の発症における潜伏感染ヒトヘルペスウイルス6の役割
3. 学会等名 第17回日本疲労学会総会・学術集会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 S I T H - 1 が関与する疾患の治療薬	発明者 近藤一博、岡直美	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2021-214412	出願年 2021年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

東京慈恵会医科大学 ウイルス学講座 https://jikeivirus.jp/ マンガでわかる「最新！疲労・ストレス講座」 https://jikeivirus.jp/
--

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