

令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：37104

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08083

研究課題名(和文) うつ病および統合失調症におけるドパミン・ノルアドレナリンシグナル制御機構の解明

研究課題名(英文) Involvement of dopamine and noradrenaline signaling mechanisms in depression and schizophrenia.

研究代表者

黒岩 真帆美 (Kuroiwa, Mahomi)

久留米大学・医学部・助教

研究者番号：20585690

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)：我々はこれまでに、抗うつ薬の作用発現には、海馬歯状回特異的なドパミンD1受容体の発現量増加が重要であることを示してきたが、その機序は不明である。本研究では歯状回のモノアミンバランスと抗うつ効果の関係を検討した。選択的セロトニン再取り込み阻害薬フルオキセチンとノルアドレナリン再取り込み阻害薬デシプラミンの併用により、抗うつ効果の増強と海馬歯状回ドパミンD1受容体の発現量増加の増強が認められた。また本研究では、炎症性うつ病モデルマウスを確立し、その病態メカニズムの一端を解明した。これらの結果より、より治療効果の高い抗うつ薬の作用機序の解明が期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

海馬歯状回特異的なドパミンD1受容体の発現量増加は抗うつ効果に重要であり、ドパミンD1受容体の増強は抗うつ薬の治療効果を増強する。したがって、ドパミンD1受容体を中心とした抗うつ作用発現の詳細な機序の解明は、うつ病の約3割を占める難治性うつ病の新たな治療法開発への寄与が期待される。また、炎症性腸疾患に併発するうつ病の発症機序を明らかにすることで、従来のうつ病研究とは異なる視点からの病態機序の解明へとつながることが期待される。

研究成果の概要(英文)：We have previously shown that increased expression of hippocampal dentate gyrus-specific dopamine D1 receptors is important for the development of antidepressant effects, but the mechanism is unknown. The present study examined the relationship between monoamine balance in the dentate gyrus and antidepressant effects. The combination of fluoxetine, a selective serotonin reuptake inhibitor, and desipramine, a noradrenaline reuptake inhibitor, enhanced antidepressant effects and increased expression of hippocampal dentate gyrus dopamine D1 receptors. In this study, we also established a mouse model of inflammatory depression and elucidated part of its pathological mechanism. These results are expected to elucidate the mechanism of action of antidepressants with better therapeutic efficacy.

研究分野：中枢神経薬理

キーワード：ドパミン ノルアドレナリン うつ病 炎症性腸疾患

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 我々はこれまでに、抗うつ薬を慢性投与すると海馬歯状回特異的にドパミン D1 受容体の発現量および細胞内ドパミン D1 受容体/PKA シグナルが増加し、この現象が抗うつ薬の作用発現に重要であることを明らかにしてきた。また、統合失調症の認知機能障害には前頭前皮質でのドパミン D1 受容体シグナルの減弱が関与すると考えられており、前頭前皮質でのドパミン D1 受容体シグナルの増強は認知機能を改善する。このように、うつ病や統合失調症の病態ならびに治療において、ドパミン D1 受容体シグナルは重要な役割をもっている。DISC1 (Disrupted-In-Schizophrenia 1) は、神経細胞の増殖や突起伸展など脳神経発達過程に重要な分子であり、うつ病や統合失調症のリスク遺伝子と考えられている。我々の検討により、DISC1 遺伝子改変 (変異型 DISC1 過剰発現) マウスでは細胞内ドパミン D1 受容体/PKA シグナルの異常が示唆された。したがって、DISC1 遺伝子改変 (変異型 DISC1 過剰発現) マウスを用いて、うつ病および統合失調症の病態に関わるドパミン D1 受容体/PKA シグナルの変容や、治療効果におけるドパミン D1 受容体/PKA シグナルの役割を解明する研究を計画した。

(2) また、抗うつ薬の直接的な薬理作用であるセロトニン再取り込み阻害作用が、どのようなメカニズムで海馬歯状回のドパミン D1 受容体を増加させるのかは未解明である。近年、海馬に豊富に投射する青斑核ノルアドレナリン神経において、ドパミンが共放出されること、ストレス負荷によりドパミンからノルアドレナリンへの変換が増加することが報告されたことから、我々は、海馬歯状回におけるドパミンとノルアドレナリンならびにセロトニンといったモノアミンシグナルのバランスが、精神疾患の病態や治療薬の作用にどのように関わっているのかを解明し、新たな治療薬の開発基盤となるメカニズムの解明を目指した。

## 2. 研究の目的

(1) 本研究の目的は、海馬歯状回のドパミン D1 受容体シグナルが、うつ病や統合失調症の病態ならびに治療薬の作用発現にどのような役割を担っているかを解明することと、ノルアドレナリンやセロトニンなどの他のモノアミンが海馬歯状回選択的ドパミン D1 受容体増加現象にどのように関与しているのか、またこれらのモノアミンバランスが病態や治療薬の作用発現にどのように関与しているのかを解明することである。本研究では、選択的セロトニン再取り込み阻害薬、ノルアドレナリン再取り込み阻害薬、セロトニン・ノルアドレナリン再取り込み阻害薬の投与により、海馬歯状回のモノアミンシグナルの変化を解析する。

(2) また、本研究に用いる精神疾患モデルマウスである DISC1 遺伝子改変 (変異型 DISC1 過剰発現) マウスにおいて、統合失調症様およびうつ病様の行動異常および脳内ドパミン D1 受容体/PKA シグナル応答性の異常を示唆する研究結果が得られたものの、途中から本マウスの出生が期待通りにいかず、必要な数のマウスの確保が困難な状態が続いたことから、病態モデルマウスの変更を行った。変更後の病態モデルマウスとして、慢性拘束ストレス負荷マウスと炎症性うつ病モデルマウスを用いた。潰瘍性大腸炎やクローン病などの炎症性腸疾患では、患者の約 3 割がうつ病を合併することや、うつ病患者は通常の 2 倍以上、炎症性疾患を発症しやすいという報告があることから、大腸の炎症を誘発するデキストラン硫酸ナトリウム (DSS) 投与により炎症性腸疾患モデルマウスを作成し、炎症性うつ病モデルマウスとして、その病態メカニズムの解明を計画した。

## 3. 研究の方法

### (1) うつ病モデルマウスの作成および薬物投与

慢性拘束ストレス負荷は、多数の穴をあけた 50 cc コニカルチューブに数時間マウスを閉じ込めることにより行った。炎症性うつ病モデルマウスは、デキストラン硫酸ナトリウム (DSS) を 8 日間引水投与することにより作成した。8 日間の DSS 投与終了後に、血便の有無、大腸の炎症および長さの短縮、うつ様行動の有無、炎症性サイトカインの測定などにより、大腸の炎症ならびにうつ状態にあるか否かを確認した。

選択的セロトニン再取り込み阻害薬 (SSRI) としてフルオキセチン、ノルアドレナリン再取り込み阻害薬としてデシプラミン、セロトニン・ノルアドレナリン再取り込み阻害薬 (SNRI) としてデュロキセチンおよびミルナシプランをそれぞれ飲水投与した。投与量および投与期間を変えることにより、効果的な投与条件を検討した。

### (2) うつ様行動の解析

不安レベルの解析方法として新奇環境節食抑制試験 (絶食後の空腹状態のマウスが新奇環境の中央に置かれた餌を食べるまでの時間を測定する。不安レベルが高いと節食までの時間が延

長する)および高架式十時迷路試験(マウスが不安を感じる高さに設置された、壁のあるアームと壁のないアームが十字に交差した迷路で、壁のないアームへの侵入回数や滞在時間を測定する。不安レベルが高いと侵入回数や滞在時間が減少する。)うつ状態の解析方法として尾懸垂試験(マウスの尾を固定して5分間逆さに吊し、無動時間の累積を測定する。うつ状態では無動時間が增加する。)を行った。

### (3) 生化学的解析

生化学的解析では、各脳部位(前頭前皮質、海馬、側坐核、青斑核)においてドパミンシグナルとノルアドレナリンシグナルを中心に、リアルタイム RT-PCR 法による遺伝子発現の変化、ウエスタンブロット法によるタンパク質発現量の変化を解析する。リン酸化タンパク DARPP-32 (dopamine-and cAMP-regulated phosphoprotein, Mr 32 kDa) は分子内の複数のリン酸化部位がどのシグナルによりリン酸化調節を受けているかが解明されているため、そのリン酸化状態を解析することで、どのシグナルが亢進または減弱したかを分析することが可能である。

さらに、ファイバーフォトメトリーシステムとモノアミンセンサー(ドパミンセンサー、ノルアドレナリンセンサー)を用いて、脳内のドパミンとノルアドレナリンの動態を高時間分解能で解析し、行動の変化と対応させ詳細なメカニズムを解明する。

## 4. 研究成果

(1) デシプラミン投与により、新奇環境摂食抑制試験において抗不安作用が認められた。しかしながら、エンリッチメント環境下(身を隠すドーム状の物体をケージ内に設置)で飼育した群においても同様の抗不安作用が認められ、デシプラミン投与群において環境エンリッチメントの有無による差は認められなかった。尾懸垂試験では環境エンリッチメント+デシプラミン投与群のみ抗うつ効果がみられた。歯状回におけるドパミン D1 受容体 mRNA の発現量はデシプラミン投与のみでは変化がみられなかったが、環境エンリッチメント群で有意な増加が認められ、環境エンリッチメント+デシプラミン投与群においてはさらなる増加が認められた。ノルアドレナリン再取り込み阻害薬は、環境要因との相互作用により歯状回 D1 受容体の発現を増加させることが示唆された。

(2) デュロキセチンあるいはミルナシプランの慢性投与実験により抗不安作用が認められた。しかしながら歯状回のドパミン D1 受容体の発現量に変化は認められなかった。一方で、拘束ストレスを短期間(5日間)与えた後に SNRI デュロキセチンを腹腔内に急性投与し行動解析を行った結果、ストレス負荷のみでは不安様行動に変化は認められなかったが、ストレス負荷後のデュロキセチン急性投与により不安様行動が増加した。この条件では尾懸垂試験における抗うつ作用が認められた。また、非ストレス群においてもデュロキセチンの急性投与は不安様行動を増加させた。ノルアドレナリンの増加は一過性的の場合と慢性的な場合とで、ストレス反応に対する影響が異なることが示唆された。

(3) 8日間のDSS 飲水投与により、血便および大腸の短縮や大腸サンプルにおける炎症性サイトカインの発現増加が認められた。DSS 最終投与日より、DSS 投与最終日から3週間後の方がうつ様行動を顕著に示すことが明らかとなった。DSS 投与最終日から3週間後では、大腸の炎症に伴う疼痛などが行動解析結果に与える影響も少ないと考えられるため、DSS 投与最終日から3週間経過した時点が、炎症性腸疾患に併発するうつ病に解析に最適であると考えた。

トリプトファン 2,3-ジオキシゲナーゼ(TDO)は、炎症性シグナルにより活性化されトリプトファンからキヌレニンへの合成を亢進する。トリプトファンはうつ病に関連深いセロトニンの原材料でもあることから、TDOの活性化によってセロトニン合成が抑制される可能性があり、うつ病の発症への関与が示唆される。DSS 投与期間中に TDO 阻害薬を併用投与したところ、DSS 投与最終日から3週間後におけるうつ様行動の出現を抑制した。したがって、炎症性腸疾患に併発するうつ病の発症メカニズムにトリプトファンからセロトニンを合成する経路に変化が生じていることが示唆された(図1)。

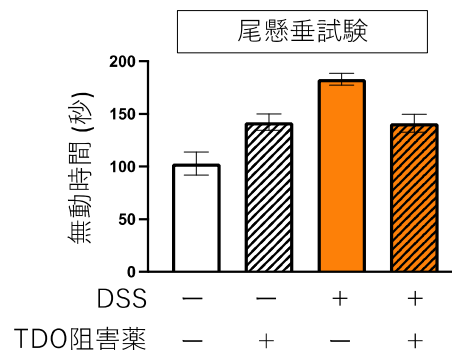


図1. 8日間のDSS投与から3週間後のうつ様行動

(4) SSRI フルオキセチンとノルアドレナリン再取り込み阻害薬デシプラミンを併用慢性投与すると、海馬歯状回のドパミン D1 受容体の発現が増強され、行動解析における抗うつ効果も増強することが明らかとなった。これらの結果より、海馬歯状回のドパミン D1 受容体発現量増加には、セロトニンとノルアドレナリンの相互作用が関与することが示唆された。現在は、それぞれの薬物の投与量を変化させて最適なモノアミンバランスの解明を行っている。

本研究により、抗うつ薬慢性投与による海馬歯状回特異的なドパミン D1 受容体発現量増加には、セロトニンとノルアドレナリンの相互作用が関与することが示唆された。また、急性的なノルアドレナリンの増加はストレス反応を増強することから、ストレス反応の惹起あるいは抗うつ効果の発現のどちらの表現型が現れるかは、ドパミン、ノルアドレナリン、セロトニンのバランスにより決定されることが示唆された。これらの結果を基に、各モノアミンへの最適な親和性が解明され、治療効果の高い抗うつ薬の開発へとつながることが期待される。

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 1件）

1. 著者名 Niiyama Tetsushi, Kuroiwa Mahomi, Yoshioka Yusaku, Kitahara Yosuke, Shuto Takahide, Kakuma Tatsuyuki, Ohta Keisuke, Nakamura Kei-ichiro, Nishi Akinori, Noda Mami	4. 巻 14
2. 論文標題 Sex Differences in Dendritic Spine Formation in the Hippocampus and Animal Behaviors in a Mouse Model of Hyperthyroidism	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Cellular Neuroscience	6. 最初と最後の頁 268
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fncel.2020.00268	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 Sugiyama Keita, Kuroiwa Mahomi, Shuto Takahide, Ohnishi Yoshinori N., Kawahara Yukie, Miyamoto Yuta, Fukuda Takaichi, Nishi Akinori	4. 巻 41
2. 論文標題 Subregion-Specific Regulation of Dopamine D1 Receptor Signaling in the Striatum: Implication for L-DOPA-Induced Dyskinesia	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 6388 ~ 6414
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/JNEUROSCI.0373-21.2021	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16件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 5件）

1. 発表者名 黒岩 真帆美、永井 拓、天野 睦紀、貝淵 弘三、西 昭徳
2. 発表標題 DARPP-32/PP1によるD1受容体/PKA/Rap1シグナルの調節
3. 学会等名 第51回日本神経精神薬理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 杵山 慶太、黒岩 真帆美、首藤 隆秀、大西 克典、河原 幸江、宮本 雄太、福田 孝一、西 昭徳
2. 発表標題 線条体におけるドパミンD1受容体シグナルの領域特異的な制御: L-ドバ誘発性ジスキネジアとの関連性
3. 学会等名 第74回日本薬理学会西南部会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 杉田 研介、園田 和倫、中安 早紀、黒岩 真帆美、首藤 隆秀、西 昭徳
2. 発表標題 抗うつ薬の慢性投与が海馬歯状回モノアミン受容体発現に及ぼす影響
3. 学会等名 第74回日本薬理学会西南部会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 黒岩 真帆美、西 昭徳
2. 発表標題 DARPP-32依存性および非依存性のD1受容体/PKA/Rap1シグナルの制御
3. 学会等名 第73回日本薬理学会西南部会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 杉田 研介、首藤 隆秀、黒岩 真帆美、西 昭徳
2. 発表標題 抗うつ作用発現における海馬歯状回ドパミンD1受容体シグナルの役割：SNRIデュロキセチンを用いた検討
3. 学会等名 第73回日本薬理学会西南部会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 枚山 慶太、黒岩 真帆美、首藤 隆秀、福田 孝一、西 昭徳
2. 発表標題 線条体中間部におけるドパミンD1シグナルの制御機構と不随意運動における役割
3. 学会等名 第47回日本脳科学学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Takahide Shuto, Mahomi Kuroiwa, Naoki Sotogaku, Yukie Kawahara, Yoshinori Ohnishi, Yuuki Hanada, Akinori Nishi
2. 発表標題 Obligatory roles of dopamine D1 receptors in the dentate gyrus in antidepressant actions of SSRI.
3. 学会等名 第42回日本神経科学大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mahomi Kuroiwa, Takahide Shuto, Naoki Sotogaku, Akinori Nishi
2. 発表標題 Activation of dopamine D1 receptor signaling in the dentate gyrus is required for antidepressant action of SSRI in a mouse model of depression.
3. 学会等名 FEPS2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hanada Y, Kawahara Y, Ohnishi Y, Shuto T, Kuroiwa M, Sotogaku N, Greengard P, Sagi Y, Nishi A
2. 発表標題 p11 in cholinergic interneurons of the nucleus accumbens is essential for dopamine responses to rewarding stimuli.
3. 学会等名 FEPS2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takahide Shuto, Mahomi Kuroiwa, Naoki Sotogaku, Yukie Kawahara, Yoshinori Ohnishi, Yuuki Hanada, Akinori Nishi
2. 発表標題 Dopamine D1 receptors in the dentate gyrus amplify therapeutic action of SSRI.
3. 学会等名 6th Congress of AsCNP (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yukie Kawahara, Yuuki Hanada, Yoshinori Ohnishi, Takahide Shuto, Mahomi Kuroiwa, Naoki Sotogaku, Hiroshi Kawahara, Akinori Nishi
2. 発表標題 p11 in cholinergic interneurons of the nucleus accumbens is essential for dopamine responses to rewarding stimuli.
3. 学会等名 6th Congress of AsCNP (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Keita Sugiyama, Mahomi Kuroiwa, Takahide Shuto, Takaichi Fukuda and Akinori Nishi
2. 発表標題 Dopamine D1 receptor/cAMP/PKA signaling is differently regulated in subregions of the striatum
3. 学会等名 The 49th Annual meeting of Society for Neuroscience (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 黒岩 真帆美、楠 智華、岡山 彰洋、首藤 隆秀、西 昭徳
2. 発表標題 抗うつ薬の作用発現における海馬歯状回ノルアドレナリン神経伝達の役割と飼育環境 要因との相互作用に関する研究
3. 学会等名 第72回日本薬理学会西南部会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岡山 彰洋、楠 智華、首藤 隆秀、黒岩 真帆美、西 昭徳
2. 発表標題 SNRIデュロキセチンの抗うつ作用における海馬歯状回ドパミンD1受容体シグナルの関与
3. 学会等名 第72回日本薬理学会西南部会
4. 発表年 2019年



1. 発表者名 箱田 恵子、首藤 隆秀、黒岩 真帆美、西 昭徳
2. 発表標題 海馬歯状回ドパミンD1受容体陽性細胞の選択的活性化がマウスのうつ病関連行動に及ぼす影響
3. 学会等名 第72回日本薬理学会西南部会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 杉山 慶太、黒岩 真帆美、首藤 隆秀、福田 孝一、西 昭徳
2. 発表標題 線条体における領域別ドパミンD1シグナル制御：片側パーキンソン病モデルによる影響
3. 学会等名 第72回日本薬理学会西南部会
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
研究分担者	西 昭徳  (Nishi Akinori)  (50228144)	久留米大学・医学部・教授   (37104)	
研究分担者	首藤 隆秀  (Shuto Takahide)  (70412541)	久留米大学・医学部・准教授   (37104)	
研究分担者	大西 克典  (Ohnishi Yoshinori)  (10626865)	久留米大学・医学部・助教   (37104)	

#### 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
---------	---------