

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：82611

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08085

研究課題名（和文）うつ病の病態におけるアストロサイトの機能異常へのリゾホスファチジン酸受容体の関与

研究課題名（英文）The effects of fasudil on social defeat stress in mouse.

研究代表者

山田 美佐（Yamada, Misa）

国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター・精神保健研究所 精神薬理研究部・科研費研究員

研究者番号：10384182

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）：社会的敗北ストレス(SDS)負荷マウスを用い、うつ病の病態におけるリゾホスファチジン酸(LPA)シグナル伝達系の関与を検討した。10日間のSDS負荷の30分前に、LPAシグナル伝達系のROCKの阻害薬ファスジルを投与することにより、強制水泳試験における無動時間の延長が抑制された。次に、主にアストロサイトに発現するグルタミン酸トランスポーター（GLT-1）発現を定量した結果、SDS負荷によりGLT-1の発現低下が認められ、ファスジル投与により回復した。以上のことから、うつ病の病態にLPAシグナル伝達を介したGLT-1発現変化等のアストロサイトの機能変化が関与する可能性が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

うつ病の治療は、主にモノアミン再取り込み阻害作用を有する薬物により行われているが課題点も多い。本研究では、うつ病の病態メカニズムの1つとしてLPAシグナル伝達系の関与を明らかとしたが、本成果は、既存の抗うつ薬の作用機序とは異なる病態をターゲットとした新規抗うつ薬の創薬につながると思う。また、本研究で用いたファスジルは、くも膜下出血術後の脳血管攣縮及びこれに伴う脳虚血症状を改善する治療薬として既に製造販売承認されている薬である。ヒトでの安全性や体内動態が確認された既存薬から新たな薬効を探るドラッグリポジショニング方略により、新規ストレス関連疾患治療薬として早期に臨床応用されることが期待される。

研究成果の概要（英文）：We investigated the effects of fasudil, a RhoA/Rho kinase inhibitor, on behavioral changes and expressional changes of glutamate transporter-1 (GLT-1) using the social defeat stress (SDS) model in mice. SDS mice exhibited increased immobility in the forced swim test. Pre-treatment with fasudil suppressed the increased immobility compared with SDS group. Fasudil pre-treatment diminished the decrease in GLT-1 expression found in the SDS group. These results suggest that dysfunction of astroglia via LPA signal transduction may be related to pathophysiology of depression.

研究分野：薬理学

キーワード：うつ病 ストレス リゾホスファチジン酸

1. 研究開始当初の背景

アストロサイトは、神経細胞を構造的に支えるとともに神経栄養因子や神経成長因子の産生や分泌等、神経に対して保護的に作用している。うつ病患者の死後脳や脳画像研究により、うつ病患者でのアストロサイトの数の減少が報告され、アストロサイトの神経保護作用の減少がうつ病の病態に関与するとの仮説が一定の支持を得てきた。一方、最近、神経変性疾患や脳損傷の病態におけるアストロサイトの関与については、アストロサイトの数の減少ではなく、アストロサイトの質的な変化（機能変化）が重要であることが報告された (Liddel et al., 2017)。うつ病モデル動物やうつ病患者死後脳でも、アストロサイトの遺伝子の発現増加やアストロサイトの機能変化がみられることから、うつ病でもアストロサイトの質的な機能変化が起こっていることが強く示唆される。しかし、うつ病の病態におけるアストロサイトの機能異常やそのメカニズム、それに続く脳内変化は明らかではない。

これまでに我々は、多彩な生理作用を有する脂質性メディエーターであるリゾホスファチジン酸(LPA)が、LPA 受容体(LPAR)を介してうつ様行動を惹起することを報告した。さらに予備検討の結果から、LPA シグナル伝達系の亢進がアストロサイトの質的な変化を引き起こすとの仮説に至った。

2. 研究の目的

本研究では、LPA シグナル伝達系の調節によるモデル動物の行動変化、アストロサイトの機能変化、それに続く脳内変化を検討することにより、うつ病の病態に LPA シグナル伝達系の亢進によるアストロサイトの機能変化が関与するかを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 社会的敗北ストレスモデルにおけるファスジルによる情動行動変化

うつ病の病態モデルとして社会的敗北ストレスモデルを用いた。攻撃個体には ICR マウスを、被験体には C57BL/6J マウスを用いた。攻撃個体のホームケージに被験体を侵入させ 10 分間攻撃を受けさせた後、透明な仕切りを隔てて 2 匹を 24 時間飼育する操作を 10 日間連続で行った。毎日のストレス負荷 30 分前に、LPA シグナル伝達系の主要リン酸化酵素 ROCK の阻害薬であるファスジル (10 mg/kg) を腹腔内投与し、最終ストレス負荷日の翌日に強制水泳試験を行った。

(2) グルタミン酸トランスポーターの発現解析

社会的敗北ストレスモデルにおけるファスジルの効果の検討に用いたマウスを強制水泳試験施行の 40 分後に断頭し脳を摘出後、前頭前皮質(PFC)・背側海馬(dHC)・腹側海馬(vHC) に分画し、液体窒素により凍結した。それぞれの部位より RNA を抽出し、主にアストロサイトに発現しシナプス間隙に放出されたグルタミン酸の再取り込みを速やかに行うグルタミン酸トランスポーター(GLT-1)発現量を real time RT-PCR 法を用いて定量した。

(3) in vivo マイクロダイアリシス法による細胞外グルタミン酸濃度の解析

C57BL6N マウスを用いて、生理食塩水又は LPAR 拮抗薬の BrP-LPA を脳室内投与し、内側前頭前野に留置したプローブより透析液を回収した。グルタミン酸濃度は、電気化学検出器付高速液体クロマトグラフを用いて定量した。

4. 研究成果

(1) 社会的敗北ストレスモデルにおけるファスジルの行動変化

はじめに、モデル動物の行動変化における LPA シグナル伝達系の関与を検討した。10 日間の社会的敗北ストレスを負荷したマウスでは、強制水泳試験において無動時間が有意に延長したことから、ストレスモデルが成立していることを確認した。ストレス負荷期間の 10 日間、負荷 30 分前に毎日ファスジルを投与した群では、生理食塩水を投与した群に比べて無動時間が有意に減少した。これらのことからファスジルは、社会的敗北ストレスによるマウスの行動変化を回復させることが明らかとなった。

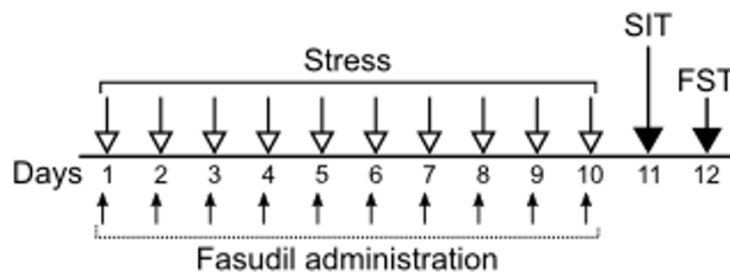


Fig. 1. The schedule of fasudil treatment, stress exposure, and subsequent behavioral tests (CON-Saline n = 18; CON-Fasudil n = 17; PS-Saline n = 16; PS-Fasudil n = 17). CON, control mice. PS, physical stress (Nakatake et al., 2020).

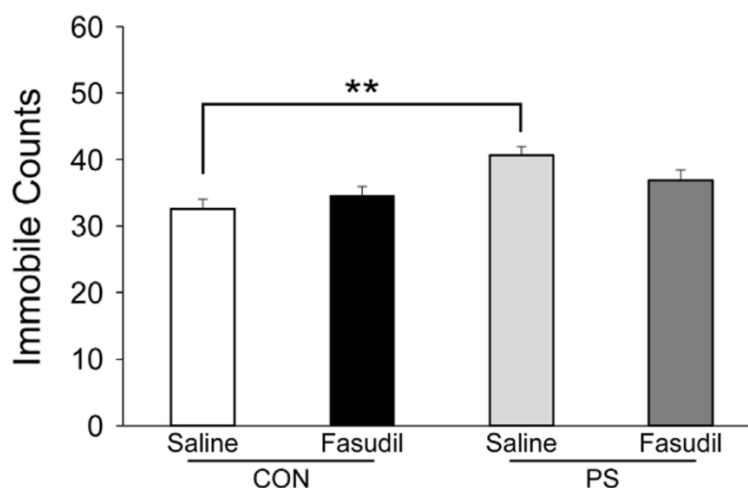


Fig. 2. Effects of Fasudil on immobile counts induced by physical stress in the forced swim test. All data are presented as mean ± SEM. **p < 0.01. (CON-Saline n = 18; CON-Fasudil n = 17; PS-Saline n = 16; PS-Fasudil n = 17). CON, control mice. PS, physical stress (Nakatake et al., 2020).

(2) 社会的敗北ストレスモデルにおけるファスジルによるグルタミン酸トランスポーターの発現解析

次に、うつ病モデル動物におけるアストロサイトの機能変化に対する LPA シグナル伝達系の関与を検討するため、社会的敗北ストレス負荷マウスを用いて前頭前皮質 (PFC)・背側海馬 (dHC)・腹側海馬 (vHC) における GLT-1 の発現量を定量した。その結果、社会的敗北ストレス負荷により GLT-1 の発現量が有意に低下し、ファスジルを前処置することによりストレス負荷による GLT-1 発現低下が回復することが明らかとなった。

(3)細胞外グルタミン酸濃度の解析

社会的敗北ストレス負荷による GLT-1 の発現低下がファスジルにより回復したことから、LPA シグナル伝達系の調節により細胞外グルタミン酸濃度が変化すると考え、*in vivo* マイクロダイアリシス法を行った。LPA 拮抗薬である BrP-LPA を脳室内投与し、内側前頭前野における細胞外グルタミン酸濃度を測定したが有意な変化は検出されなかった。今回は、ストレスを負荷していないマウスを用いて検討を行ったが、今後、ストレスモデル動物を用いることにより、LPA シグナル伝達系のグルタミン酸神経系の調節等の役割を明らかにすることができるかもしれないと考える。

以上、本研究では、うつ病の病態メカニズムの 1 つに LPA シグナル伝達系が関与すること、GLT-1 発現が変化することが明らかとなり、ストレス負荷-LPA シグナル伝達の亢進-GLT-1 発現変化等のアストロサイトの変化が関与することが示された。本研究成果は、既存の抗うつ薬の作用機序とは異なる病態をターゲットとした新規抗うつ薬の創薬につながると考える。

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 Nakatake, Y., Furuie, H., Yamada, M., Kuniishi, H., Ukezono, M., Yoshizawa, K., Yamada, M	4. 巻 158
2. 論文標題 The effects of emotional stress are not identical to those of physical stress in mice model of social defeat stress.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neurosci. Res.	6. 最初と最後の頁 56-63
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neures.2019.10.008.	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3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Nakatake, Y., Yamada, M., Furuie, H., Yoshizawa, K., Yamada, M.
2. 発表標題 A ROCK inhibitor, fasudil, suppressed behavioral changes induced by physical stress, but not by emotional stress in mice social defeat stress model.
3. 学会等名 6th Asian College of Neuropsychopharmacology (AsCNP) Congress (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中武優子、山田美佐、古家宏樹、吉澤一巳、山田光彦
2. 発表標題 ROCK阻害剤であるファスジルは社会的敗北ストレスによるマウスの行動変化を予防する
3. 学会等名 第93回日本薬理学会年会
4. 発表年 2020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	山田 光彦 (YAMADA MITSUHIKO) (60240040)	国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター・精神保健研究所 精神薬理研究部・部長 (82611)	

6. 研究組織（つづき）

	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	三輪 秀樹 (MIWA HIDEKI) (80468488)	国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター・精神保健研究所 精神薬理研究部・室長 (82611)	
研究分担者	古家 宏樹 (FURUIE HIROKI) (90639105)	国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター・精神保健研究所 精神薬理研究部・室長 (82611)	

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