

令和 5 年 6 月 19 日現在

機関番号：37111

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K16657

研究課題名（和文）海馬BMP4シグナル経路からストレス誘発性不安障害メカニズムを探る

研究課題名（英文）The effect of hippocampal BMP4 signaling pathway on stress-induced anxiety disorders

研究代表者

森 征慶（Mori, Masayoshi）

福岡大学・薬学部・助教

研究者番号：00759251

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,900,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では「ストレス誘発性海馬BMP4シグナル経路の活性化が、精神疾患の一つである不安障害の発症メカニズムに関与するのか？」をテーマとして設定した。結果として、ストレス誘発性不安モデルラットでは、感情制御にかかわる海馬においてBMP4シグナル活性の亢進、および海馬神経数の減少が認められた。次に、不安モデルラットの海馬において、炎症マーカーであるリン酸化p38-MAPKP3の発現が増加していた。脳内炎症は不安障害を含む精神疾患のリスク因子である。また、BMP4は炎症惹起因子としての機能をもつことも知られていることから、不安障害の発症には海馬BMP4シグナル活性化が関与する可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

不安障害は精神疾患の中でも罹患率が高く、その発症要因は人間関係間で生じる心理社会的ストレスである。しかし、不安障害の病態メカニズムについては未解明な部分が多いため、既存の不安治療薬の効果は不十分である。そのため、より有効性の高い不安治療薬が望まれている。本研究結果により、海馬BMP4シグナル活性化がストレス誘発性不安障害の発症にかかわっている可能性が示された。海馬BMP4は既存の治療薬とは全く異なるメカニズムであるため、BMP4シグナルが新規の抗不安薬の治療ターゲットになることが期待される。

研究成果の概要（英文）：In this study, we investigated that the effects of stress-induced activation of hippocampal BMP4 signaling pathway on anxiety disorders. As a result, in stress-induced anxiety model rats, increased BMP4 signaling pathway activity and decreased neurogenesis were observed in the hippocampus which is involved in emotional regulation. Next, the expression of phosphorylated p38-MAPKP3, an inflammatory marker, was increased in the hippocampus of the stress-induced anxiety model rats. Brain inflammation is a risk factor for psychiatric disorders, including anxiety disorders. Since BMP4 is also known to function as an inflammation-inducing factor, our results indicate that hippocampal BMP4 signaling activation may be involved in the development of anxiety disorders.

研究分野：精神疾患

キーワード：BMP4 海馬 神経新生 炎症 不安障害

## 1. 研究開始当初の背景

不安障害は精神疾患の中でも罹患率が高く、友人・家族・職場関係などの心理社会的ストレスが主な発症要因である。また、不安障害はうつ病をはじめとした他の精神疾患発症の強い危険因子でもあるため、臨床における良好な不安症状コントロールを達成する意義・重要性は極めて高い。しかし、不安障害の病態メカニズムについては未解明な部分が多いため、既存の不安治療薬(抗うつ薬、ベンゾジアゼピン系抗不安薬など)の治療効果は不十分である。この臨床問題を解決するために、不安障害の病態メカニズム解明し、それに基づいた新規の作用メカニズムを有する抗不安薬の開発が必要である。

## 2. 研究の目的

申請者らはこれまで海馬神経新生の減少が不安障害の発症に寄与することを明らかにしている (Mori et al., 2014; Murata et al., 2015)。また、不安障害を含む精神疾患には脳内炎症が関与することが示されている (Michopoulos et al., 2017)。しかしながら、ストレスによる海馬神経新生の減少および脳内炎症を引き起こす因子およびそのメカニズムについては未だ解明されていない。海馬における骨形成タンパク質 (bone morphogenetic protein: BMP) 4 が、海馬神経新生に対して抑制的に作用し、抗うつ薬の作用機序にかかわっていることが示されている (Brooker et al., 2017)。さらに、BMP4 は炎症反応を誘発する作用を有することも明らかになってきている (Shijo et al., 2018)。このように、BMP4 が感情制御に重要な海馬機能に対してネガティブな作用を示す知見が増えてきてはいるが、これらは全て非ストレス条件下での結果である。不安障害を含む精神疾患の発症の主要因はストレスであるため、ストレスが海馬 BMP4 ならびに炎症に与える影響を明らかにすることが重要である。そこで本研究では、ストレス誘発性不安障害の発症に海馬 BMP4 がかわっているのかどうかを検証し、考察した。

## 3. 研究の方法

被験体として 6-8 週齢の雄性 Wistar 系ラットを用いた。ストレス誘発性不安モデルラットを作製するために、Resident-Intruder 系による社会的敗北ストレスを負荷した。Resident-Intruder 系による社会的敗北ストレスは、人間社会の「いじめ・パワハラ」をモデル化した臨床に近いストレスラーである。社会的敗北ストレスを、10 日間連日 (1 日 1 回のストレス) で負荷することにより、ストレス誘発性不安モデルラットを作製した。

ストレス負荷終了後に不安症状を評価するために、新奇環境下食餌行動抑制試験を行った。この試験では、専用のアリーナ (新奇環境) の中心部に飼料を配置しておき、ラットが飼料を食べるまでの時間 (潜時) を測定した。さらに、物体位置認識試験を行うことで、海馬依存のタスクである空間記憶を評価した。この試験では、同一の物体を 2 個配置した専用のアリーナにラットを 10 分間入れることで、物体の空間配置を習得させた。習得訓練から 4 時間後に、片方の物体の配置を変更したアリーナ内に再度ラットを入れて、配置が変更した物体 (標的物体) に対する探索時間を評価した。

これらの行動試験の終了後に、一部のラットを灌流固定し、海馬を含む凍結脳切片を作成した。この切片を用いて海馬神経新生を評価した。また、その他のラットから海馬を摘出した。そして、海馬サンプルにおける BMP4、BMP4 の下流シグナルであるリン酸化 Smad1/5/9、炎症マーカーであるリン酸化 p38-MAPK の発現量を、それぞれウエスタンブロット法にて評価した。

## 4. 研究成果

### 不安および空間記憶

新奇環境下食餌行動抑制試験における潜時は、社会的敗北ストレスを受けたラットで増加していた。また、物体位置認識試験における標的物体に対する探索時間は、社会的敗北ストレスを受けたラットで減少していた。これらの結果は、本研究で用いた 10 日間の社会的敗北ストレス負荷により、不安症状の増加と空間記憶力の低下が引き起こされたことを示している。

### 海馬神経新生

海馬神経新生の評価には、細胞生存マーカーとして 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU)、細胞増殖マーカーとして Ki-67、未成熟神経マーカーとして doublecortin (DCX) を用いた。まず、海馬における BrdU 陽性細胞数には、社会的敗北ストレスの影響はみられなかった。次に、Ki-67 陽性細胞数は、社会的敗北ストレスを受けたラットで増加していた。その一方で、DCX 陽性細胞数は、社会的敗北ストレスを受けたラットで減少していた。最後に、DCX 陽性細胞数を Ki-67 陽性細胞数で割ることで DCX/Ki-67 比を算出した。その結果、DCX/Ki-67 比は社会的敗北ストレスを受けたラットで増加していた。

海馬神経新生とは、海馬の神経幹細胞から増殖した新生細胞が神経細胞へと分化・成長し、既存の神経回路に統合されるまでの一連のステップを指す現象である (DeCarolis and Eisch, 2010; Ehninger and Kempermann, 2008)。そのため DCX/Ki-67 比は、増殖した細胞が未成熟神経へと分

化した割合を示すものであり、新生細胞の生存および神経成長速度の指標となることが報告されている (Wiget et al., 2017)。チミジンアナログである BrdU は、細胞周期の S 期において新たに合成された DNA に取り込まれる。そのため、BrdU 投与数時間後では細胞増殖の評価として、また、BrdU 投与数週間後では新生細胞の生存数の評価として用いることが可能である。本研究では BrdU 投与 3 週間後の時点で評価を行ったため、社会的敗北ストレスは新生細胞の生存に対して影響を与えなかったと考えられる。以上のことから、本研究における DCX/Ki-67 比の減少は、社会的敗北ストレスにより海馬の新生細胞が神経へと成長する速度が低下したことを示している。過去の報告では、海馬神経新生の減少が不安障害などの精神疾患の発症にかかわっていることが示されている (Tanti and Belzung, 2013)。そして、遺伝的手法を用いて海馬神経新生を減少させると、空間記憶力を含む認知機能の障害を介して不安が増加することも示されている (Revest et al., 2009)。そのため本研究結果は、臨床的なストレスである社会的敗北ストレスは、海馬神経新生の減少を基盤とした認知機能障害を引き起こすことで、不安障害の発症に寄与する可能性を示している。

#### 海馬 BMP4 シグナルと炎症反応

社会的敗北ストレスが海馬神経新生を減少させる因子として BMP4 シグナルに注目し、その発現量を評価した。社会的敗北ストレスを受けたラットでは、海馬における BMP4 タンパク発現量、Smad1/5/9 および p38-MAPK のリン酸化レベルが増加していた。BMP4 による細胞内シグナル伝達は Smad を介して行われる (Smad 経路) ことが知られている (Heldin et al., 1997)。そのため本研究結果は、社会的敗北ストレスが海馬 BMP4 シグナル活性を亢進したことを示している。過去の報告から、海馬 BMP4 シグナルが神経新生と認知機能の制御にかかわることが明らかになっている。BMP4 阻害作用をもつ Noggin を過剰発現させたマウスでは、海馬依存性のタスクの成績が良くなることが報告されている (Gobeske et al., 2009; Meyers et al., 2016)。また、BMP4 シグナルの活性化は、海馬神経新生を抑制することが明らかになっている (Bond et al., 2014)。そのため本研究結果は、社会的敗北ストレスによる海馬 BMP4 シグナル活性亢進が、神経新生と認知機能の低下、ならびに不安症状の増加に寄与する可能性を示している。

不安障害を含む精神疾患の発症メカニズムの一つとして脳内炎症が注目されている (Michopoulos et al., 2017)。そして、p38-MAPK は炎症性サイトカインや酸化物質を誘導することで、炎症反応を惹起する因子である。そして、BMP タンパクによる細胞内シグナル伝達経路には、p38-MAPK のリン酸化を介した経路 (非 Smad 経路) もあることが明らかになっている (Gomez-Puerto et al., 2019)。そのため本研究結果は、社会的敗北ストレスが海馬 BMP4-p38-MAPK (非 Smad 経路) を介した炎症反応を引き起こした可能性を示している。

#### 結論

本研究により不安障害発症の主要因であるストレスが、海馬における BMP4 シグナルを活性化することが明らかとなった。これまで、海馬における神経新生の減少や炎症反応のトリガー因子として、セロトニンなどのモノアミン、神経栄養因子といった神経に対してポジティブ作用を有するものが注目されてきた。しかしながら、統一した見解は未だ得られていない (Murrough et al., 2015; Menard et al., 2016)。その中で、本研究で着目した BMP4 は神経に対してネガティブ作用を有しており (Bond et al., 2014; Brooker et al., 2017)、かつ、脳内炎症のトリガーにもなる因子である (Shinjo et al., 2018)。つまり、本研究結果はストレス誘発性不安障害の発症と関連深い脳内炎症および海馬神経新生の減少の両方のトリガー因子である可能性を示している。本研究が今後の不安研究分野の土台となり、新規の抗不安薬の開発へとつながっていくことを期待している。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Mori Masayoshi, Shizunaga Hiromi, Harada Hiroyoshi, Tajiri Yuki, Murata Yusuke, Terada Kazuki, Ohe Kenji, Enjoji Munechika	4. 巻 42
2. 論文標題 Oxytocin treatment improves dexamethasone induced depression like symptoms associated with enhancement of hippocampal CREB BDNF signaling in female mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neuropsychopharmacology Reports	6. 最初と最後の頁 356 ~ 361
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/npr2.12271	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 Mori Masayoshi, Murata Yusuke	4. 巻 13
2. 論文標題 The role of bone morphogenetic protein signaling in functioning and adult neurogenesis of the hippocampus.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Basic and Clinical Pharmacy	6. 最初と最後の頁 195~197
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Fukuoka Keisuke, Murata Yusuke, Otomaru Tomomi, Mori Masayoshi, Ohe Kenji, Mine Kazunori, Enjoji Munechika	4. 巻 4
2. 論文標題 Recovery Sleep Immediately after Prolonged Sleep Deprivation Stimulates the Transcription of Integrated Stress Response-Related Genes in the Liver of Male Rats	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Clocks & Sleep	6. 最初と最後の頁 623 ~ 632
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/clockssleep4040048	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 Harada Hiroyoshi, Mori Masayoshi, Murata Yusuke, Kawanabe Shunsuke, Terada Kazuki, Matsumoto Taichi, Ohe Kenji, Enjoji Munechika	4. 巻 22
2. 論文標題 Dynamic Changes of Behavioral Despair, HPA Axis Activity, and Hippocampal Neurogenesis in Male Rats Induced by Social Defeat Stress	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Integrative Neuroscience	6. 最初と最後の頁 43 ~ 43
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.31083/j.jin2202043	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 Kawanabe Shunsuke, Mori Masayoshi, Harada Hiroyoshi, Murata Yusuke, Ohe Kenji, Enjoji Munechika	4. 巻 797
2. 論文標題 Upregulations of 1 adrenergic receptors and noradrenaline synthases in the medial prefrontal cortex are associated with emotional and cognitive dysregulation induced by post-weaning social isolation in male rats	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Neuroscience Letters	6. 最初と最後の頁 137071 ~ 137071
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neulet.2023.137071	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 Deshimaru M, Mishima T, Watanabe T, Kubota K, Hosoi M, Kinoshita-Kawada M, Yuasa-Kawada J, Ikeda M, Mori M, Murata Y, Abe T, Enjoji M, Kiyonari H, Kodama S, Fujioka S, Iwasaki K, Tsuboi Y.	4. 巻 764
2. 論文標題 Behavioral profile in a Dctn1G71A knock-in mouse model of Perry disease.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neuroscience letters	6. 最初と最後の頁 136234
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neulet.2021.136234.	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 Matsumoto T, Takamatsu Y, Moriyama H, Terada K, Mori M, Ono K, Migita K, Hara S.	4. 巻 97
2. 論文標題 Bortezomib enhances G-CSF-induced hematopoietic stem cell mobilization by decreasing CXCL12 levels and increasing vascular permeability.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Experimental hematology	6. 最初と最後の頁 21
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.exphem.2021.02.009.	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 -

1. 著者名 Mori M, Murata Y, Tsuchihashi M, Hanakita N, Terasaki F, Harada H, Kawanabe S, Terada K, Matsumoto T, Ohe K, Mine K, Enjoji M	4. 巻 392
2. 論文標題 Continuous psychosocial stress stimulates BMP signaling in dorsal hippocampus concomitant with anxiety-like behavior associated with differential modulation of cell proliferation and neurogenesis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Behavioural brain research	6. 最初と最後の頁 112711
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbr.2020.112711	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 0件）

1. 発表者名 柴村 亮佑、村田 雄介、高牟礼 啓志、森 征慶、大江 賢治、遠城寺 宗近
2. 発表標題 ベルガモット精油およびスイートオレンジ精油の吸入曝露がマウスの睡眠に及ぼす影響
3. 学会等名 日本薬学会 第143年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 堂園 愛矢、村田 雄介、中島 朋香、大野 茉祐、高牟礼 啓志、森 征慶、大江 賢治、遠城寺 宗近
2. 発表標題 スイートオレンジの香りを持つ精油および合成香料の吸入による抗不安効果の違い
3. 学会等名 日本薬学会 第143年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 日高 巧望、村田 雄介、高牟礼 啓志、森 征慶、大江 賢治、遠城寺 宗近
2. 発表標題 慢性的なベルガモット精油の吸入曝露がマウスの長期恐怖記憶に及ぼす影響
3. 学会等名 日本薬学会 第143年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 大城 舞衣、村田 雄介、石橋 花、柴村 亮佑、日高 巧望、森 征慶、大江 賢治、遠城寺 宗近
2. 発表標題 睡眠不足によるマウスの認知機能低下に対するローズマリー・カンファー精油の吸入曝露の効果
3. 学会等名 日本薬学会 第143年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 大野 茉祐、村田 雄介、中島 朋香、石橋 花、森 征慶、大江 賢治、遠城寺 宗近
2. 発表標題 オキサゾロン誘発性皮膚炎モデルマウスは病悩期間が長くなるにつれてストレス感受性が亢進し、抑うつ・不安様行動を示す
3. 学会等名 日本薬学会 第143年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 田中 雅樹、森 征慶、川邊 隼輔、永田 成美、村田 雄介、大江 賢治、遠城寺 宗近
2. 発表標題 幼少期の社会的孤立による衝動性の亢進には内側前頭前野におけるプロテインキナーゼC および の遺伝子発現量の増加が関与する
3. 学会等名 日本薬学会 第143年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 永田 成美、森 征慶、川邊 隼輔、田中 雅樹、村田 雄介、大江 賢治、遠城寺 宗近
2. 発表標題 幼少期の社会的孤立により衝動性が亢進したラットでは青斑核ノルアドレナリン神経が活性化している
3. 学会等名 日本薬学会 第143年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 田村 美咲、森 征慶、隅 憲広、川邊 隼輔、村田 雄介、大江 賢治、遠城寺 宗近
2. 発表標題 オキシトシンは雌性うつ病モデルマウスに対して抗うつ・不安作用を示すのか？
3. 学会等名 日本薬学会 第143年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 隅 憲廣、森 征慶、田村 美咲、川邊 隼輔、村田 雄介、大江 賢治、遠城寺 宗近
2. 発表標題 コルチコステロン誘発性不安モデル雌性マウスの脳内の不安関連タンパク発現量に対するオキシトシン濃度依存的な影響の検証
3. 学会等名 日本薬学会 第143年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 大江 賢治、深川 渉、森 征慶、村田 雄介、田中 智子、井上 博之、遠城寺 宗近
2. 発表標題 非小細胞性肺癌細胞株のEGFR発現に対するSF3B阻害剤の効果
3. 学会等名 日本薬学会 第143年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 堀田 裕太、田中 智子、森 征慶、村田 雄介、遠城寺 宗近、大江 賢治
2. 発表標題 副腎皮質細胞において転写因子NR2F1を抑制すると小胞体ストレス応答因子のERN1 (IRE1)は増加する
3. 学会等名 日本薬学会 第143年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 森 征慶、田村 美咲、隅 憲廣、川邊 隼輔、村田 雄介、大江 賢治、遠城寺 宗近
2. 発表標題 コルチコステロン誘発性うつ病モデル雌性マウスに対して、オキシトシン慢性投与は濃度特異的な治療効果を示す
3. 学会等名 JPW2022 ( 第96回日本薬理学会年会 / 第43回日本臨床薬理学会学術総会 )
4. 発表年 2022年



1. 発表者名 田口 美咲、原田 洸秀、森 征慶、川邊 隼輔、栗山 透、村田 雄介、大江 賢治、遠城寺 宗近
2. 発表標題 ストレス誘発性不安モデルラットにおける扁桃体5-HT1Aおよび2A受容体のmRNA発現量変化は利き手によって異なる
3. 学会等名 日本薬学会 第142年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 森 征慶、静永 紘実、原田 洸秀、田尻 夢貴、川邊 隼輔、栗山 透、村田 雄介、松本 太一、寺田一 樹、大江 賢治、遠城寺 宗近
2. 発表標題 デキサメタゾン誘発性うつ病モデルマウスにおいて、オキシトシン慢性投与 は海馬CREB-BDNFシグナルの活性化を介してうつ病様行動を改善する
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会 CJK第1回国際会議
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 原田 洸秀、森 征慶、田口 美咲、上之 将明、川邊 隼輔、福岡 慶祐、栗山 透、村田 雄介、大江 賢治、遠城寺 宗近
2. 発表標題 左半球の海馬BDNF-TrkB-CREBシグナルはラットの利き手によって異なる
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会 CJK第1回国際会議
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 原田 洸秀、森 征慶、上之 将明、田尻 夢貴、静永 紘実、川邊 隼輔、村田 雄介、大江 賢治、遠城寺 宗近
2. 発表標題 The effects of handedness on emotional behavior and functional laterality of the hippocampus in rats
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
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
--	---------------------------	-----------------------	----

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