

令和 6 年 6 月 20 日現在

機関番号：30110

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K07506

研究課題名（和文）うつ病の海馬テロメア長短縮に対するmiRNA制御機構の解明

研究課題名（英文）Mechanisms of miRNA regulation of hippocampal telomere length shortening in depression

研究代表者

鹿内 浩樹（Shikanai, Hiroki）

北海道医療大学・薬学部・講師

研究者番号：00632556

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、うつ病モデル動物の海馬におけるテロメア長短縮のメカニズムを解明するために、miRNAに注目した分子生物学的解析を試みた。マイクロアレイ解析により、うつ病モデルの海馬においては複数のmiRNA発現異常が認められた。しかしパスウェイ解析では、いずれのmiRNAもテロメア長制御に対し直接的な関与は認められなかった。一方で、あるmiRNAはオレキシン受容体の発現制御をしていることに着目し、うつ病モデルの海馬における発現量を解析したところ、オレキシン1受容体の過剰発現を発見した。すなわち本研究では、うつ病と細胞老化の関係について研究を進める新しい糸口をつかむ結果となった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでうつ病の病態は、「モノアミン仮説」や「ダウンレギュレーション仮説」など抗うつ薬の薬理作用機序から導かれたものであった。そのためこれまでの病態仮説に基づくうつ病の創薬は、抗うつ薬が作用するモノアミン系に限られていた。しかし近年、うつ病の約3割は既存の抗うつ薬が無効である「治療抵抗性うつ病」が大きな問題となってきた。このアンメットメディカルニーズに対応するためには、既存の治療薬とは異なる機序の抗うつ薬の開発が求められている。本研究により、miRNAおよびオレキシン受容体がうつ病治療の新たなターゲットとして示された。これはうつ病の全容解明を進める一助となる学術的意義を示すものである。

研究成果の概要（英文）：In this study, a molecular biological analysis focusing on miRNAs was attempted to elucidate the mechanism of telomere length shortening in the hippocampus of animal models of depression. Microarray analysis revealed multiple miRNA expression abnormalities in the hippocampus of depression models. However, pathway analysis showed that none of the miRNAs were directly involved in telomere length regulation. On the other hand, one miRNA regulates orexin receptor expression, and analysis of expression levels in the hippocampus of a depression model revealed overexpression of orexin 1 receptors. Thus, these results provide a new target for further research on the relationship between depression and cellular aging.

研究分野：神経薬理学

キーワード：うつ病 動物モデル 海馬 テロメア miRNA オレキシン受容体

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

自殺は通常、多くの要因が相互に絡み合って起こり、多くの場合「うつ病」がその要因の中に含まれる。我々の共同研究グループである神戸大学大学院医学研究科精神医学分野は、自殺者の血液と脳におけるテロメア長の異常短縮を報告した。また、Jacob ら (2014) は、末梢血テロメア長と海馬体積には正の相関があることを報告している。これらを踏まえて我々は、自殺者の血液におけるテロメアの異常短縮は、うつ病の病態の一つであり、うつ病における海馬病変を示唆するバイオマーカーとしてテロメア長が有用である、という 2 つの可能性について研究を進めている。

これまでに研究代表者は、生後 3 週齢のラットに嫌悪ストレスを反復負荷することによって作成されるうつ病モデルラット(幼若期ストレスモデル: 3wFS)を用いて、うつ病の病態解明を目指した研究を進めてきた。このモデル動物が示す強制水泳試験における無動時間の延長は、抗うつ薬の反復投与により回復することが明らかとなっている (Lyttle et al., 2015)。従ってこのモデルは、うつ病の動物モデルとして高い妥当性を有している。この 3wFS の海馬におけるテロメア長およびテロメラーゼの活性サブユニット TERT のタンパク量を測定したところ、テロメア長の異常短縮および TERT タンパク発現の減少が認められた。

以上を踏まえ、「うつ病におけるテロメア長異常短縮の病態生理学的意義は何か?」「TERT 発現低下のメカニズムは何か?」という 2 つの点が本研究課題に取り組む背景である。

### 2. 研究の目的

一般に遺伝子の転写・翻訳は、様々な後天的調節を受ける。例えば、DNA から mRNA に転写される際には、DNA メチル化やヒストン修飾などエピジェネティックな制御を受けることがある。一方、近年 mRNA の翻訳工程において、20 塩基程度の non-coding RNA であるマイクロ RNA (miRNA) の関与が明らかとなってきた。様々ながんに関する研究では、miR491-p などの miRNA による TERT タンパク制御が報告されているが (Botta et al., 2018 review)、精神疾患とテロメア・TERT についての miRNA 制御に関する研究については報告がなく、この点を明らかにしていくということが本研究の最初の目的であった。同時に、「テロメア長の解析はうつ病のスクリーニングに有用である」という仮説の検証を行うことが出来、うつ病の病態研究に新しい切り口を提唱するという観点から、学術的に高い独自性と創造性を有すると考えた。

### 3. 研究の方法

本研究では、うつ病モデル動物 3wFS を作製することからスタートする。ラットをフットショック箱にいれ、足蹠電撃ショック嫌悪ストレスを 5 日間連続で負荷することにより 3wFS を作製した(図 1)。生後 10 週齢の 3wFS 群および対照群の脳から海馬 (hippocampus, HIP) を氷冷下でトリミングすることで海馬サンプルを回収し、解析まで -80 で保存した。

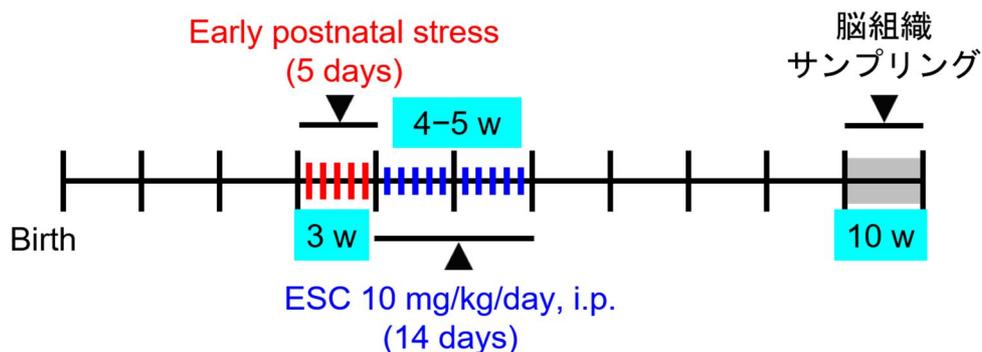


図 1. うつ病モデル動物 3wFS の作製および脳組織サンプリングのプロトコール。

次に HIP 組織から抽出された total RNA に含まれる miRNA を対象としたマイクロアレイ解析を行った。この解析により異常が認められた miRNA (以下 miR-X) を中心にパスウェイ解析を行い、テロメア長および TERT の発現に対し制御を行っているものを探索した。また、その miR-X と関連するタンパクの機能や発現について追究した。必要に応じてウェスタンブロッティング法によるタンパク質の定量解析や、脳外科手術を施したラットに薬物の脳内局所投与を行い、行動薬理的試験を行った。

#### 4. 研究成果

3wFS の海馬における miRNA のマイクロアレイ解析の結果、以下の 6 つの miRNA の発現低下の可能性が示された。

miR-182	miR-331-5p	miR-137-5p、
miR-466b-2-3p	miR-466b-4-3p	miR-879-3p

これらの miRNA がテロメア長および TERT 発現量に関与する可能性を追究するためにパスウェイ解析を試みた。しかしながらこれまでの先行研究で構築されたデータベースの中からは、テロメアに関与する miRNA を見出すことが出来なかった。当初の研究計画では、この時点で絞り込んだ miRNA の類似物質 (agomir)/ 阻害物質 (antagomir) を海馬に局所投与することで得られるテロメアへの影響およびうつ様行動を評価し、テロメア長及び TERT 発現量について追究する予定であったが、研究の方向を修正せざるを得ない状況となった。

パスウェイ解析を進める中で、miR-137 については、近年「オレキシン OX1 受容体 (OX1R)」の発現を抑制的に制御していることが報告された (Jiang et al., 2019)。オレキシン受容体には OX1R と OX2 受容体 (OX2R) が存在し、海馬や扁桃体など情動の責任脳部位に発現している (Marcus et al., 2001)。オレキシンが睡眠・覚醒を制御する生理機能については研究が進んでおり、すでに臨床応用もされている。一方で「オレキシンとうつ病」の関連については、うつ病患者の脳脊髄液中のオレキシン濃度は低値を示すことが報告されている (Brundin et al., 2007) が、オレキシン受容体の異常についての報告は少ない。本研究課題で用いているうつ病モデル動物の海馬における OX1R の発現をウェスタンブロッティング法で定量解析したところ、対照群に比較して有意な発現量増加が認められた (図 2)。

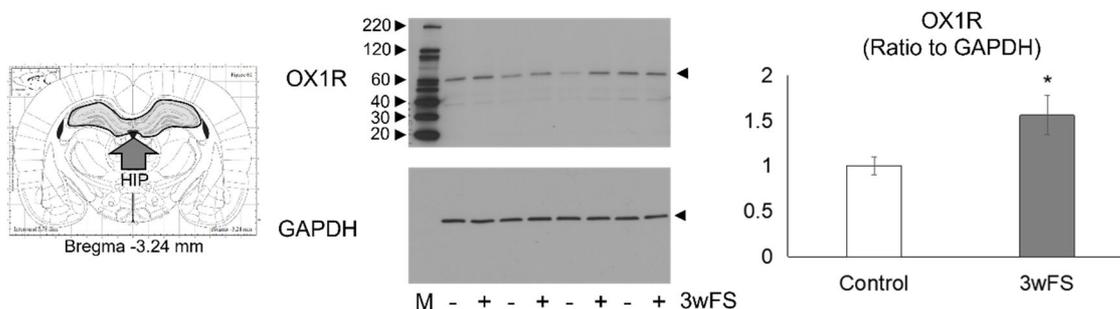


図 2. うつ病モデル動物の海馬における OX1R の発現量解析。 \*P < 0.05.

また、正常動物の海馬に対し選択的 OX1R 拮抗薬を投与したところ、強制水泳試験における無動時間 (Immobility) の短縮が認められた。すなわち、海馬における OX1R はうつ様行動の制御に関与することが行動薬理的に示された (図 3)。

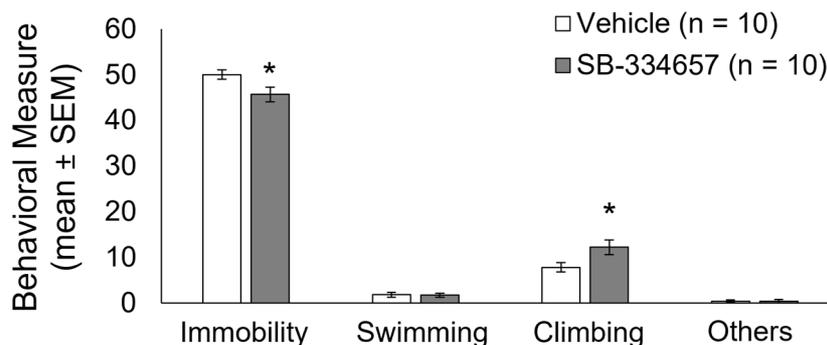


図 3. 選択的 OX1R 拮抗薬 SB-334657 の海馬局所投与による抗うつ効果。 \*P < 0.05.

以上の研究結果から、研究当初の背景・目的であった、「うつ病におけるテロメア長異常短縮の病態生理学的意義は何か?」「TERT 発現低下のメカニズムは何か?」については解明に至ることが出来なかった。しかし「うつ病の病態解明に新しい切り口を提唱する」という観点から考えると、モノアミン仮説に基づいた既存の抗うつ薬とは異なる、新しい作用機序をもった抗うつ薬の開発に対し、創薬シーズを提供することが出来た。

今後の研究としては、今回見いだした「オレキシン神経系とうつ病」の観点から研究を進めることと並行し、「細胞老化とうつ病」の観点から再度テロメア長とうつ病の関係について追究していきたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Suzuki Naoya, Hiraide Sachiko, Shikanai Hiroki, Isshiki Takeru, Yamaguchi Taku, Izumi Takeshi, Iizuka Kenji	4. 巻 154
2. 論文標題 Impaired monoamine neural system in the mPFC of SHRSP/Ezo as an animal model of attention-deficit/hyperactivity disorder	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Journal of Pharmacological Sciences	6. 最初と最後の頁 61～71
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jphs.2023.12.002	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 該当する

1. 著者名 Shikanai Hiroki, Ikimura Kazuko, Miura Momoko, Shindo Tsugumi, Watarai Akane, Izumi Takeshi	4. 巻 9
2. 論文標題 Separation and detection of D-/L-serine by conventional HPLC	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 MethodsX	6. 最初と最後の頁 101752～101752
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.mex.2022.101752	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 該当する

1. 著者名 Shindo T, Shikanai H, Watarai A, Hiraide S, Iizuka K, Izumi T.	4. 巻 923
2. 論文標題 D-serine metabolism in the medial prefrontal cortex, but not the hippocampus, is involved in AD/HD-like behaviors in SHRSP/Ezo	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 European Journal of Pharmacology	6. 最初と最後の頁 174930
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ejphar.2022.174930.	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 該当する

〔学会発表〕 計16件（うち招待講演 3件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 鹿内 浩樹、進藤 つぐみ、尾崎 和音、大橋 敦子、大塚 郁夫、菱本 明豊、泉 剛
2. 発表標題 うつ病モデル動物における海馬テロメアの異常短縮
3. 学会等名 第97回日本薬理学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 尾崎 和音、鹿内 浩樹、篠塚 賢志、馬淵 莉穂、進藤 つぐみ、大橋 敦子、泉 剛
2. 発表標題 海馬におけるオレキシン受容体の発現と情動制御機能
3. 学会等名 第36回北海道薬物作用談話会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 尾崎 和音、鹿内 浩樹、馬淵 莉穂、進藤 つぐみ、大橋 敦子、泉 剛
2. 発表標題 海馬オレキシン受容体によるうつ様行動の制御
3. 学会等名 日本薬学会北海道支部第150回例会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 泉 剛、今野 幸太郎、渡辺 雅彦、田中 謙二、鹿内 浩樹
2. 発表標題 SSRIの抗不安作用の機序 脳内セロトニン神経系について
3. 学会等名 第14回日本不安症学会学術大会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 日下 翔太、脇田 征太郎、進藤 つぐみ、尾崎 和音、鹿内 浩樹、大橋 敦子、泉 剛
2. 発表標題 うつ病モデル動物の海馬におけるGSK3 / $\beta$ -cateninシグナルの異常解析
3. 学会等名 日本薬学会北海道支部第149回例会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 葛西 里菜, 鹿内 浩樹, 日下 翔太, 進藤 つぐみ, 大橋 敦子, 泉 剛
2. 発表標題 うつ病モデル動物の恐怖記憶消去障害に対するリルゾールの効果
3. 学会等名 日本薬学会北海道支部第149回例会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 うつ様行動における海馬オレキシン受容体の役割
2. 発表標題 馬淵 莉穂, 鹿内 浩樹, 進藤 つぐみ, 沓村 美幸, 大橋 敦子, 泉 剛
3. 学会等名 日本薬学会北海道支部第149回例会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中井 慎一, 鹿内 浩樹, 大橋 敦子, 泉 剛
2. 発表標題 うつ病モデル動物の脳辺縁系における下垂体ホルモン受容体mRNA発現解析
3. 学会等名 日本薬学会北海道支部第149回例会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 尾崎 和音, 進藤 つぐみ, 日下翔太, 脇田 征太郎, 鹿内 浩樹, 大橋 敦子, 泉 剛
2. 発表標題 幼若期ストレス負荷うつ病モデル動物の脳内 GSK3 / -cateninシグナルの異常
3. 学会等名 第35回北海道薬物作用談話会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鹿内 浩樹, 進藤 つぐみ, 尾崎 和音, 馬淵 莉穂, 中井 慎一, 大橋 敦子, 泉 剛
2. 発表標題 うつ病における海馬オレキシン受容体の関与
3. 学会等名 第73回日本薬理学会北部会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鹿内 浩樹, 進藤 つぐみ, 尾崎 和音, 大橋 敦子, 大塚 郁夫, 朴 秀賢, 菱本 明豊, 泉 剛
2. 発表標題 うつ病モデル動物におけるテロメア
3. 学会等名 第52回日本神経精神薬理学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鹿内 浩樹, 進藤 つぐみ, 平出 幸子, 木村 真一, 飯塚 健治, 泉 剛
2. 発表標題 AD/HDの薬物治療の新しい戦略 -New drug treatment strategies for AD/HD-
3. 学会等名 第96回日本薬理学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 進藤 つぐみ, 鹿内 浩樹, 高津 誠也, 大橋 敦子, 泉 剛
2. 発表標題 うつ病モデル動物における前頭前野および皮質辺縁系 Akt シグナルの異常
3. 学会等名 日本薬学会北海道支部第148回例会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 進藤 つぐみ、鹿内 浩樹、高津 誠也、脇田 征太郎、泉 剛
2. 発表標題 うつ病モデル動物における脳内Akt-mTOR シグナルの異常
3. 学会等名 第51回日本神経精神薬理学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 進藤 つぐみ、鹿内 浩樹、高津 誠也、脇田 征太郎、泉 剛
2. 発表標題 うつ病モデル動物における脳内Akt-mTOR/GSK-3 シグナルの異常
3. 学会等名 次世代を担う若手のための創薬・医療薬理シンポジウム2021
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 進藤 つぐみ、脇田 征太郎、尾崎 和音、高津 誠也、鹿内 浩樹、大橋 敦子、泉 剛
2. 発表標題 うつ病モデル動物の脳内 Akt-mTOR および GSK3 系の異常解析
3. 学会等名 第34回北海道薬物作用談話会
4. 発表年 2021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	泉 剛  (Izumi Takeshi)  (60312360)	北海道医療大学・薬学部・教授   (30110)	

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