

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 5月29日現在

機関番号：32666

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22500342

研究課題名（和文） 抗うつ薬の作用基盤としての海馬神経幼若化の解析

研究課題名（英文） Hippocampal neuronal dematuration as a mechanism of action of antidepressant drugs

研究代表者

小林 克典 (KOBAYASHI KATSUNORI)

日本医科大学・医学部・講師

研究者番号：10322041

研究成果の概要（和文）：

抗うつ薬フルオキセチンがマウスの行動と海馬神経細胞に及ぼす影響を検討した。高用量のフルオキセチンを成体マウスに投与すると、海馬神経細胞機能の幼若化と相関して活動量が日々顕著に変化するなどの行動異常が生じた。コルチコステロン慢性投与によるうつ病モデルマウスでは神経幼若化が促進されていた。以上より、健康な状態における神経幼若化の誘導は有害反応に関与することと、ある種の病的状態では神経幼若化が生じ易いことが示唆された。

研究成果の概要（英文）：

We examined the effect of the antidepressant fluoxetine on behavior and hippocampal neurons in mice. A high dose of fluoxetine induced behavioral abnormalities including a marked day-to-day fluctuation of activity levels that correlated with functional dematuration of hippocampal neurons. In mice chronically treated with corticosterone that model depressive disorder, neuronal dematuration was facilitated. These results suggest that neuronal dematuration is enhanced in certain pathological states and that the induction of dematuration in the healthy state could contribute to adverse effects of antidepressants.

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|---------|-----------|
| 2010年度 | 900,000 | 270,000 | 1,170,000 |
| 2011年度 | 1,200,000 | 360,000 | 1,560,000 |
| 2012年度 | 1,200,000 | 360,000 | 1,560,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,300,000 | 990,000 | 4,290,000 |

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：脳神経科学 神経化学・神経薬理学

キーワード：神経科学・脳神経疾患・薬理学・生理学・行動学

1. 研究開始当初の背景

抗うつ薬の直接の作用はモノアミンの再取込阻害や代謝阻害と考えられているが、それが最終的に抗うつ効果に結びつく機構は不明である。申請者は、抗うつ薬として用いられる選択的セロトニン再取込阻害薬フルオ

キセチンをマウスに慢性投与することによって、海馬シナプス伝達に対するセロトニンの修飾作用が安定化されることを見出した。さらに最近の研究によって、高用量のフルオキセチンを投与すると、海馬歯状回の成熟顆粒細胞が幼若神経細胞様の機能特性を示す

ようになることを見出した。うつ病の電気けいれん療法動物モデルである電気けいれん刺激を与えた際にも成熟神経細胞マーカーの発現が低下することが報告されており、神経幼若化が抗うつ作用の神経基盤の一端を担っている可能性がある。一方、精神疾患様の顕著な行動異常を示す α -CaMKIIヘテロノックアウトマウスでも歯状回顆粒細胞が幼若な状態にあり、その機能特性はフルオキセチンによって幼若化した顆粒細胞と極めて類似している。以上から、神経幼若化は抗うつ薬の治療効果のみならず有害反応にも関与する可能性が考えられる。

2. 研究の目的

本研究では正常マウス及び疾患モデルマウスを用いて、神経幼若化に伴う行動変化を、異常行動の発現も含めて検討し、神経幼若化と行動変化との因果関係を検討する。抗うつ薬による脳機能改善と有害反応発現において海馬神経幼若化が果たす役割を明らかにし、効果的かつ安全なうつ病治療法開発の基盤形成を試みる。

3. 研究の方法

正常マウス、うつ・不安の疾患モデルマウスに神経幼若化を誘導し、生理学的に判定した神経細胞・回路機能変化と行動変化との関連を解析する。抗うつ薬による神経幼若化が抑制を受けているセロトニン5-HT₄受容体ノックアウトマウスを用いて、神経幼若化と行動変化の因果関係を検討する。電気けいれん刺激が歯状回の神経幼若化を誘導するかどうかを解析し、神経幼若化現象の一般性を検討する。

4. 研究成果

(1)フルオキセチン (FLX) を成体マウスに慢性投与することによって、ホームケージにおける活動量の顕著な日間変動(行動の不安定化)が生じることを発見した。この変化は海馬歯状回の神経幼若化の指標の一つであるシナプス伝達の変化と有意に相関し、神経幼若化と行動変化はともに断薬後少なくとも1ヵ月間は持続した。また、オープンフィールド、明暗箱における不安様行動の亢進と強制水泳、尾懸垂におけるうつ関連行動の変化も見られた。脱成熟が抑制されているセロトニン5-HT₄受容体欠損マウスでは、行動の不安定化と不安様行動の亢進が抑制されていたが、うつ関連行動には変化がなかった。これらの結果は、FLXによる行動の不安定化と不安様行動の亢進の神経基盤に神経幼若化が関与することを示唆している。これらの行動変化は躁転や気分不安定化などの抗うつ薬の副作用に関連する可能性があり、健康な状態での神経幼若化の誘導は抗うつ薬の有害反

応に関与することが推測される。

(2)ストレスホルモンであるコルチコステロン (CORT) の慢性投与 (10mg/kg/day、7週間) による不安・うつモデルマウスに対するFLXの効果を検討するため、CORT投与の後半4週間にFLX 10 mg/kg/dayを投与した。通常この投与量のFLXでは神経幼若化は生じないが、CORT投与動物では神経幼若化を示す電気生理学的特徴と分子マーカー発現変化が見られた。この時、FLXの血中濃度はCORT投与では変化せず、FLXによる治療を受けているヒトの血中濃度と同程度であった。また、正常なマウスに高用量のFLXによって神経幼若化を誘導した際に見られる行動の不安定化は見られなかった。これらの結果はストレス応答系に異常が生じている状態では、FLXによる神経幼若化が促進されることを示しており、治療用量のFLXによってヒトでも神経幼若化が生じることを示唆している。

(3)成体マウス (9週齢) に電気けいれん刺激を単回又は複数回与え、海馬神経細胞と行動に対する効果を検討した。電気けいれん刺激の24時間後に急性海馬スライス標本を作製し、電気生理学的解析を行ったところ、神経細胞の活動の特性やシナプス伝達及びその可塑性に変化が生じており、神経細胞の成熟状態が変化していることを示唆する結果を得た。

(4)複数の疾患モデルマウスを用いて電気けいれん刺激の効果を検討した。Learned helplessnessによるうつ様行動に対する効果を検討したが、現時点では一定した結果が得られていない。CORT慢性投与マウスにおける探索行動の低下が電気けいれん刺激で回復することを示唆する結果を得た。うつ様行動及び恐怖条件付けに対する効果の検討を継続中である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計9件)

- ① Kobayashi K, Ikeda Y, Asada M, Inagaki H, Kawada T, Suzuki H. Corticosterone facilitates fluoxetine-induced neuronal plasticity in the hippocampus. *PLoS One* 8: e63662 (2013). 査読有 doi: 10.1371/journal.pone.0063662.
- ② Shin R, Kobayashi K, Hagihara H, Kogan JH, Miyake S, Tajinda K, Walton NM, Gross AK, Heusner CL, Chen Q, Tamura K, Miyakawa T, Matsumoto M. The immature dentate gyrus represents a shared phenotype of mouse models of epilepsy and psychiatric disease. *Bipolar Disorders* 2013 (advance online

- publication) 査読有
doi: 10.1111/bdi.12064.
- ③ Ohira K, Kobayashi K, Toyama K, Nakamura HK, Shoji H, Takao K, Takeuchi R, Yamaguchi S, Kataoka M, Otsuka S, Takahashi M, Miyakawa T. Synaptosomal-associated protein 25 mutation induces immaturity of the dentate granule cells of adult mice. *Molecular Brain* 6: 12 (2013). 査読有
doi: 10.1186/1756-6606-6-12.
- ④ Takao K, Kobayashi K, Hagihara H, Ohira K, Shoji H, Hattori S, Koshimizu H, Umemori J, Toyama K, Nakamura HK, Kuroiwa M, Maeda J, Atsuzawa K, Esaki K, Yamaguchi S, Furuya S, Takagi T, Walton NM, Hayashi N, Suzuki H, Higuchi M, Usuda N, Suhara T, Nishi A, Matsumoto M, Ishii S, Miyakawa T. Deficiency of schnurri-2, an MHC enhancer binding protein, induces mild chronic inflammation in the brain and confers molecular, neuronal, and behavioral phenotypes related to schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 2013 (advance online publication) 査読有
doi: 10.1038/npp.2013.38.
- ⑤ Nagura H, Ishikawa Y, Kobayashi K, Takao K, Tanaka T, Nishikawa K, Tamura H, Shiosaka S, Suzuki H, Miyakawa T, Fujiyoshi Y, Doi T. Impaired synaptic clustering of postsynaptic density proteins and altered signal transmission in hippocampal neurons, and disrupted learning behavior in PDZ1 and PDZ2 ligand binding-deficient PSD-95 knockin mice. *Molecular Brain* 5: 43 (2012). 査読有
doi: 10.1186/1756-6606-5-43
- ⑥ Kobayashi K, Haneda E, Higuchi M, Suhara T, Suzuki H. Chronic fluoxetine selectively upregulates dopamine D1-like receptors in the hippocampus. *Neuropsychopharmacology* 37: 1500-1508 (2012). 査読有
doi: 10.1038/npp.2011.335.
- ⑦ 小林克典, 「SSRIによる海馬神経成熟の逆転」*医学のあゆみ* 237: 793-794 (2011). 査読無
- ⑧ Kobayashi K, Umeda-Yano S, Yamamori H, Takeda M, Suzuki H, Hashimoto R. Correlated alterations in serotonergic and dopaminergic modulations at the hippocampal mossy fiber synapse in mice lacking dysbindin. *PLoS One* 6: e18113 (2011). 査読有
doi: 10.1371/journal.pone.0018113.
- ⑨ Kobayashi K, Ikeda Y, Suzuki H. Behavioral destabilization induced by the selective serotonin reuptake inhibitor fluoxetine. *Molecular Brain* 4:12 (2011). 査読有
doi: 10.1186/1756-6606-4-12.
- [学会発表] (計 16 件)
- ① 小林克典, 「抗うつ作用の細胞基盤としての海馬神経脱成熟」、第 90 回日本生理学会大会、2013 年 3 月 27-29 日、東京
- ② 小林克典, 「電気けいれん刺激は海馬歯状回顆粒細胞の機能的成熟を逆転させる」、第 35 回日本神経科学大会、2012 年 9 月 18-21 日、名古屋
- ③ 井本有基, 「電気けいれん刺激による海馬歯状回の神経成熟マーカー発現変化」、第 35 回日本神経科学大会、名古屋、2012 年 9 月 18-21 日
- ④ 名倉仁, 「シナプス伝達および可塑性における PSD-95 タンパク質 PDZ1/2 ドメインの役割」、第 35 回日本神経科学大会、名古屋、2012 年 9 月 18-21 日
- ⑤ 井本有基, 「電気けいれん刺激による海馬歯状回神経の成熟状態の変化」、第 85 回日本薬理学会年会、京都、2012 年 3 月 14-16 日
- ⑥ Takao, K., “Deficiency of Schnurri-2, an MHC enhancer binding protein, induces mild chronic inflammation in the brain and confers molecular, neuronal, and behavioral phenotypes related to schizophrenia” 28th CINP World Congress of Neuropsychopharmacology, Stockholm, Sweden, 2012 年 6 月 3-7 日
- ⑦ 小林克典, 「セロトニン 5-HT4 受容体欠損マウスにおける恐怖条件付けのメカニズム的特異的な亢進」、第 34 回日本神経科学大会、2011 年 9 月 14-17 日、横浜
- ⑧ 高雄啓三, 「Schnurri-2 ノックアウトマウスにおける統合失調症に関連した大脳皮質の異常 (Mice lacking Schnurri-2 displayed cortical abnormalities related to schizophrenia)」、第 34 回日本神経科学大会、横浜、2011 年 9 月 14 日 -17 日
- ⑨ Takao, K., “Deficiency of Schnurri-2 confers schizophrenia-related phenotypes and inflammatory-like phenomenon in the brain.”, 2011 KSBNS-MCCS Conference, Seoul, Korea, 2011 年 9 月 19-20 日
- ⑩ Kobayashi K, “Reversal of hippocampal neuronal maturation as a cellular mechanism of antidepressant action”. The 6th International Conference of

Neurons and Brain Diseases, 2011 年 8
月 3-5 日、富山

- ⑪ 小林克典、「統合失調症脆弱性遺伝子
dysbindin欠損マウスにおけるセロトニン、
ドパミンによるシナプス修飾の変化」、第
33 回日本神経科学大会、2010 年 9 月 2-4
日、神戸

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小林 克典 (KOBAYSHI KATSUNORI)
日本医科大学・医学部・講師
研究者番号：10322041

(3) 連携研究者

坂井 敦 (SAKAI ATSUSHI)
日本医科大学・医学部・助教
研究者番号：30386156

池田 裕美子 (IKEDA YUMIKO)
日本医科大学・医学部・助教
研究者番号：10386154