

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4月10日現在

機関番号：82611
 研究種目：基盤研究C
 研究期間：2010～2012
 課題番号：22500346
 研究課題名（和文） 抗うつ薬の作用メカニズムにおける Notch シグナル伝達系の役割
 研究課題名（英文） Gene expression analysis in ventral and dorsal hippocampal dentate gyrus after 4 weeks treatment with sertraline.
 研究代表者
 山田 光彦 (YAMADA MITSUHIKO)
 独立行政法人国立精神・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
 研究者番号：60240040

研究成果の概要（和文）：

本研究では、セルトラリン投与後のマウス海馬歯状回を腹側部、背側部に分離し、神経可塑的变化に関連する遺伝子発現を定量した。その結果、神経ペプチドの galanin は、セルトラリン投与後の腹側部において有意に発現増加するが、背側部では変化しないことが明らかとなった。情動との関連が強く示唆されている腹側部で galanin の発現量が増加していたことから、抗うつ薬の作用メカニズムに関連する可能性が考えられた。

研究成果の概要（英文）：

In the present study, we examined the expression of several neuroplasticity-related genes by real-time RT-PCR in the ventral and dorsal dentate gyrus of mice after the sertraline treatment. The gene encoding the neuropeptide galanin was significantly induced in only ventral dentate gyrus, not in dorsal dentate gyrus. These results suggest that sertraline-related galanin induction in ventral dentate gyrus may play an important role in therapeutic mechanisms for depression.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
2012年度	900,000	270,000	1,170,000
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：行動薬理・神経可塑的变化・遺伝子発現

1. 研究開始当初の背景

うつ病の病態及び治癒機転については、既存の抗うつ薬がシナプス間隙におけるモノアミン濃度を上昇させることから、うつ病ではモノアミン神経系に障害があるのではないかという「モノアミン仮説」が提唱されてきた。しかし、このような薬理作用が抗うつ薬投与後短時間で生じるのに対し、抗うつ効果発現には数週間を要する。そのため、うつ病の治癒機転には遺伝子発現を介した脳内のシステム変化が重要であると考えられている。近年、抗うつ薬の作用メカニズムに海馬歯状回の神経可塑的变化が重要であると報告されているが、その詳細な分子機構は解明されていない。一方、海馬歯状回において腹側部と背側部でその機能が異なることが報告されている。腹側部は情動の調節機能、背側部は主に記憶に関与する機能が報告されている。そこで、抗うつ薬の作用メカニズムにおける神経可塑的变化に関わる分子機構を明らかにするには、これらの部位を分離した検討を進める必要がある。

2. 研究の目的

これまで我々は、抗うつ薬の作用メカニズムに関連する遺伝子を網羅的に探索し、複数の Notch シグナル伝達系転写因子を同定した。Notch シグナル伝達系は、神経可塑的变化を制御する転写カスケードである。さらに、Notch シグナル伝達系の最終ターゲットである神経細胞の分化、成熟に関与する遺伝子を多数同定したことから、抗うつ薬の作用メカニズムに神経可塑的变化を制御する Notch シグナル伝達系の関与が強く示唆された。本研究では、うつ病治癒メカニズムにおける神経可塑的变化に関わる分子機構を明らかにするため、抗うつ薬慢性投与後のマウス海馬歯状回を腹側部と背側部に分離し、神経可塑的

変化に関連する遺伝子を探索することを目的とした。

3. 研究の方法

行動薬理的検討

実験動物には雄性 C57BL6/N マウス (6 週齢) を使用した。抗うつ薬の効果を確認するために、selective serotonin reuptake inhibitors (SSRI) であるセルトラリン 10mg/kg を 4 週間腹腔内投与し、抗うつ薬のスクリーニング試験として用いられている新奇環境摂餌行動抑制試験及び強制水泳試験を行った。評価は、新奇環境摂餌行動試験における摂餌行動までの潜時、強制水泳試験における無動時間及び水泳時間を指標とした。また、新奇環境摂餌行動抑制試験においては試験前日の体重量、食餌量を食欲の指標として用いた。

分子生物学的検討

セルトラリンを 4 週間投与したマウスの脳から実体顕微鏡下に海馬歯状回を単離し、腹側部と背側部に分離した。アンモン角の混入の有無及び腹側部、背側部の分離の確認は、それぞれに特異的に発現する遺伝子 (Mrg1b, somatostatin receptor1, lactase) を用いて、real time RT-PCR 法により確認した。神経可塑的变化に関連する遺伝子として、神経幹細胞の増殖 (Notch1, Notch2 等)・神経細胞への分化・成熟 (Math2, Prg1, galanin 等) に関与する遺伝子群、グリアへの分化に関わる遺伝子 (GLT-1, GLAST, Ndr2)、SOX 転写因子 (Sox4, Sox11, Sox12)、を選択した。海馬歯状回腹側部及び背側部における、これら遺伝子の発現定量を real time RT-PCR 法により検討した。

3. 研究成果

行動薬理的検討

セルトラリン 4 週間投与により、新奇環境摂餌行動抑制試験における摂餌行動潜時の短縮が認められた (Fig.1)。試験前日の体重及び食餌量に差は認められなかった。また、強制水泳試験における無動時間の短縮及び水泳時間の増加が観察された (Fig.2)。

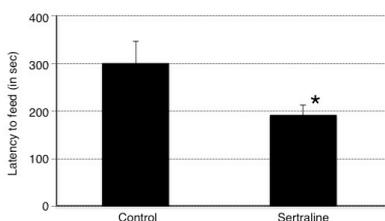


Fig. 1. Effects of chronic sertraline treatment in the novelty-suppressed feeding test. Data are represented as means±SEM. Statistical significance of differences was assessed by Student's t-test. * $p < 0.05$.

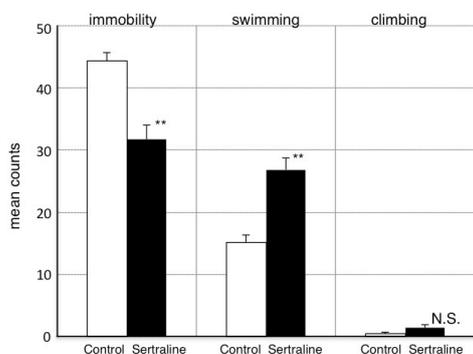


Fig. 2. Effects of chronic sertraline treatment in the modified forced swim test. Values plotted are means±SEM. Statistical significance of differences was assessed by Student's t-test. * $p < 0.01$.

分子生物学的検討

実体顕微鏡下、海馬歯状回を単離し、腹側部と背側部に分離した。海馬アンモン角に特異的に発現する遺伝子である *Mrg1b* は、摘出した歯状回で発現が認められないことを確認した。また、分離した歯状回の腹側部、背側部を用いて、*somatostatin receptor1* 及び *lactase* を増幅した結果、それぞれの部位に特異的に発現していることを確認した。神経可塑的变化に関連する遺伝子を定量した中で、*galanin* は、セルトラリン投与後の海馬歯状回腹側部において有意に発現増加することが明らかとなった (Fig. 3A)。一方、背側部では *galanin* の発現変化は認められなかった (Fig. 3B)。

galanin は脳、消化管に発現する神経ペプチドであり、これまでに抗うつ様、抗不安様作用が報告されている。しかし、そのメカニズムは明らかとなっていない。情動との関連が強く示唆されている腹側部で *galanin* の発現量が増加していたことから、抗うつ薬の作用メカニズムに関連する可能性が考えられた。

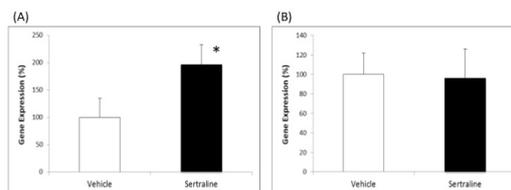


Fig. 3. Effects of chronic sertraline treatment on galanin expression in ventral (A) and dorsal (B) dentate gyrus. Data are represented as means±SEM. Statistical significance of differences was assessed by Student's t-test. * $p < 0.05$.

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1件)

Induction of galanin after chronic sertraline treatment in mouse ventral dentate gyrus.

Yamada, M., Makino, Y., Hashimoto, T., Sugiyama, A., Oka, JI., Inagaki, M.,

Yamada, M. and Saitoh, A. Brain Res. 1516, 76-82. 2013. 査読有

DOI:10.1016/j.brainres.2013.04.002

〔学会発表〕(計2件)

Induction of galanin after chronic sertraline treatment in mouse ventral dentate gyrus. 山田光彦、牧野祐哉、山田美佐、橋本富男、杉山梓、稲垣正俊、岡淳一郎、斎藤顕宜 第36回日本神経科学会 国立京都国際会館 2013.6.20-23

セルトラリン4週間投与後の海馬歯状回腹側部及び背側部の遺伝子発現の変化(Gene expression analysis in ventral and dorsal hippocampal dentate gyrus after 4 weeks treatment with sertraline) 牧野祐哉、山田美佐、斎藤顕宜、橋本富男、杉山梓、稲垣正俊、岡淳一郎、山田光彦 第22回日本臨床精神神経薬理学会 第42回日本神経精神薬理学会 合同年会栃木県総合文化センター、宇都宮東部ホテルグランデ 2012.10.18-20

6. 研究組織

(1)研究代表者

山田 光彦 (YAMADA MITSUHIKO)

独立行政法人 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

研究者番号：60240040

(2)研究分担者

斎藤 顕宜 (SAITOH AKIYOSHI)

独立行政法人 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

研究者番号：00366832

山田 美佐 (YAMADA MISA)

独立行政法人 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