

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成24年 5月31日現在

機関番号：82401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2011

課題番号：23659569

研究課題名（和文） 双極性障害モデルを用いた気分エピソード依存的な生体内変化のメタボローム解析

研究課題名（英文） Mood episode-dependent metabolome analysis of bipolar disorder model mice

研究代表者

笠原 和起 (KASAHARA TAKAOKI)

独立行政法人理化学研究所・精神疾患動態研究チーム・副チームリーダー

研究者番号：50344031

研究成果の概要（和文）：

我々が開発した双極性障害のモデルマウスを用い、このマウスが示す数週間にわたる著しい行動量の減少のエピソード中に、どのような体内変化が起きているかを血漿のメタボローム解析を行った。その結果、エネルギー代謝に関わる分子群とコレステロール代謝物群のいくつかが発見された。これらの分子はいずれもヒト血漿中にも存在することから、臨床研究につながる成果である。

研究成果の概要（英文）：

We performed metabolome analysis using bipolar disorder model mice, which we have developed, to elucidate the physiological change at the molecular level during hypoactivity episodes the model showed. Plasma concentration of molecules related to cellular energy metabolism and cholesterol metabolism were significantly altered. Because these metabolites are to be in human plasma, the present result will lead to future clinical studies.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・精神神経科学

キーワード：双極性障害、モデルマウス、ミトコンドリア DNA、メタボローム解析、血漿、Hydroxyprogesterone

1. 研究開始当初の背景

研究代表者らは、双極性障害のミトコンドリア異常仮説に注目し、モデルマウスの作製を行ってきた欠失したミトコンドリア DNA (mtDNA) を伴う慢性進行性外眼筋麻痺 (CPEO) では双極性障害などの気分障害を併発する可能性があることや、双極性障害

患者の mtDNA に特定の多型や多重欠失が多いことが報告されている。そこで、CPEO の原因遺伝子のひとつである mtDNA 合成酵素に点変異を導入し、神経細胞のみで発現を誘導するプロモーターに連結してトランスジェニック (Tg) マウスを作った。週齢を経て脳に mtDNA の異常が蓄積すると、

日内リズムの異常や、性周期に伴って行動量が大きく変化するなど行動異常が見られた。これらは、三環系抗うつ薬の投与で増悪し、リチウム投与によって改善したことから、双極性障害のモデルになりうると考えられた。以上の行動異常は常に観察されるが、それらに加えて、ときどき（平均すると半年に1回）数週間にわたって行動量が著しく減少するという症状を示すことを見出した。この長期行動量低下の期間中は行動量が低下するだけでなく、スクロース嗜好性が高まったり、体重が増えたり、体温の日内変動パターンが変化したり、さまざまな体内の変化が生じる。これまで多くの気分障害モデルが提案されてきたが、それらの表現型は常時、あるいは薬物投与時のみに観察される。一方、この長期行動量低下は気分障害の精神症状のエピソード性に類似している。

2. 研究の目的

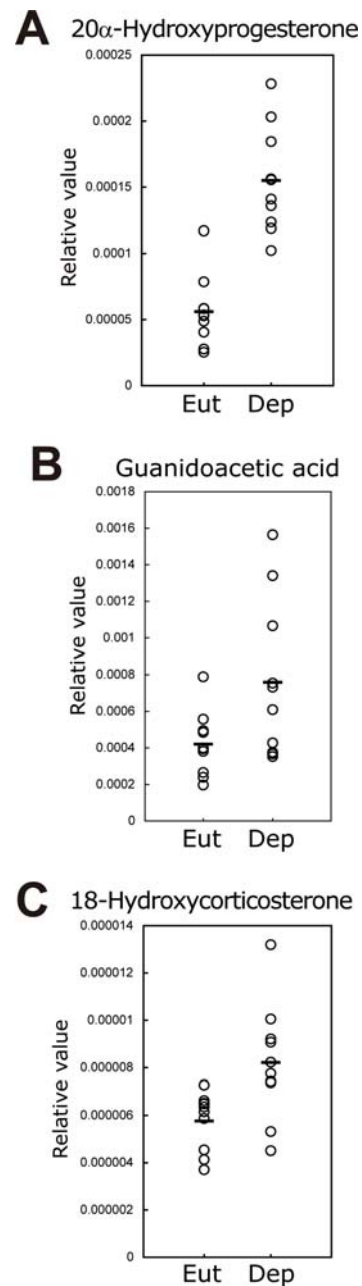
このモデルマウスを用いて、エピソード依存的な体内の変化を解明し、モデル動物の作製に続く次のステップとして、臨床レベルで気分障害の究明、および創薬等、新しい治療法の開発につなげていくことを想定する。

3. 研究の方法

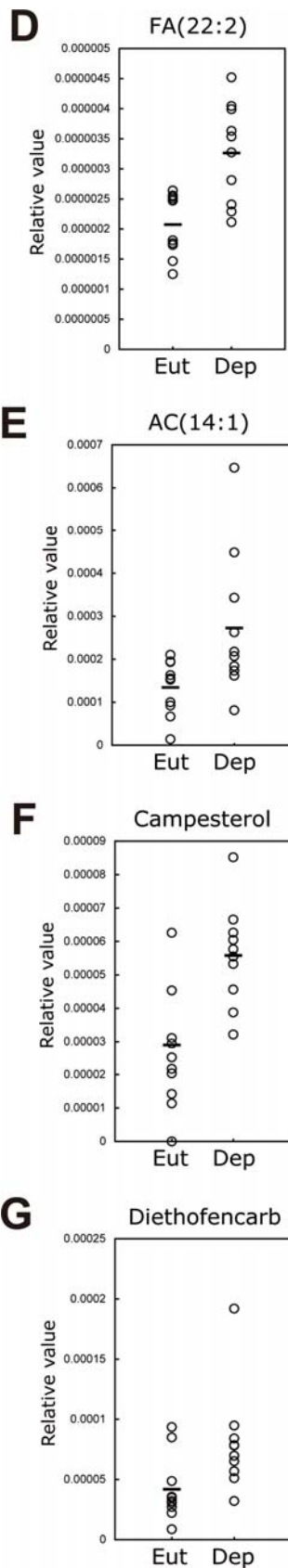
Tg マウス 34 匹、non-Tg マウス 16 匹、合計 50 匹の輪回し行動を 4 月から 12 月まで観察し、長期行動量低下のエピソードを示したら、そのエピソード中に血漿を採取した。同時に、エピソード中ではない同腹の Tg マウスと non-Tg マウスからもサンプリングした（各個体 350~500 μ L）。「エピソード中 Tg、寛解中 Tg、non-Tg」の 3 群を 5 セット（合計 15 サンプル）採取し、メタボローム解析に供した。この解析はヒューマン・メタボローム・テクノロジー社（鶴岡市）で行い、親水性分子群はキャピラリー電気泳動-質量分析計（CE-MS）によって、疎水性分子群は液体クロマトグラフィー質量分析計（LC-MS）によって解析した。これらの分析によって得られたデータから、エピソード依存的な代謝物質の変化および遺伝子型依存的な変化を、統計学的手法を用いて抽出した。

4. 研究成果

CE-MS および LC-MS によって、合計 276 種の分子を同定・定量することができた。また、うち 110 種は、標準サンプルとの比較を行って絶対定量した。ANOVA 解析および post hoc *t* 検定によって、3 群間、あるいは 2 群「エピソード中 vs 寛解中」間で有意に変動している分子種を求めた。その結果、エネルギー代謝に関わる分子群とコレステロール代謝物群のいくつかが発見された。多重比較を考慮し、最も有意に変動し



【図1】
寛解状態 (Eut) と長期行動量低下中 (Dep) で血漿中の濃度が変化していた分子群 (次ページに続く)



【図1】（前ページからの続き）寛解状態 (Eut) と長期行動量低下中 (Dep) で血漿中の濃度が変化していた分子群

ていた分子は、 20α -Hydroxyprogesterone (KEGG ID: C04042) であった (エピソード中に増加、2.8倍、 $P=7.4\times 10^{-6}$) (図1A)。他に、クレアチンの前駆体であるグアニド酢酸 (図1B) や、コルチコステロンの代謝産物である18-Hydroxycorticosterone (図1C) が有意に長期行動量低下中に増加していた (それぞれ1.8倍、1.4倍)。また、脂肪酸 (図1D) やアシルカルニチン (脂肪酸とカルニチンが結合した分子) (図1E) が、炭素数や不飽和度のいずれにおいても全般的に長期行動量低下中のマウスで増加していた (平均すると2倍ほど)。また、なぜマウスの血漿中に存在するのか疑問であるが、Campesterol (植物コレステロールの一種で多くの野菜・果物に微量含まれている) (図1F) と Diethofencarb (殺菌剤の一つ、化学名 isopropyl 3,4-diethoxycarbanilate) (図1G) も長期行動量低下中に増加していた (1.9倍、 $P=0.0017$ および 1.9倍、 $P=0.031$)。今回の解析から検出されたこれらの分子は、いずれもヒト血漿中にも存在することから、臨床研究につながる成果であった。

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)

Fuke S, Kubota-Sakashita M, Kasahara T, Shigeyoshi Y, Kato T. Regional variation in mitochondrial DNA copy number in mouse brain. *Biochim. Biophys. Acta* **1807**, 270-274 (2011). 【査読有り】

〔学会発表〕 (計3件)

1. 笠原和起. 気分障害の生物学的アプローチ. 第116回日本眼科学会総会. 2012年4月6日. 東京.

2. Takaoki Kasahara, Tadafumi Kato. A Possible Role of Mitochondrial Dysfunction in Bipolar Disorder: from Genetics to Animal Model. The American College of Neuropsychopharmacology 第50回年会. 2011年12月8日. 米国ハワイ州ワイコロア.

3. 笠原和起, 窪田美恵, 石渡みずほ, 亀谷瑞枝, 磯野蒨子, 加藤忠史. 変異 *Polg1* トラ

ンスジェニックマウスが示す気分障害類似の表現型の詳細な解析. 第 33 回日本生物学的精神医学会. 2011 年 5 月 21 日. 東京.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

笠原 和起 (KASAHARA TAKAOKI)

独立行政法人理化学研究所・精神疾患動態研究チーム・副チームリーダー

研究者番号：50344031

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし