

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 27 日現在

機関番号：24701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2015

課題番号：24790662

研究課題名(和文)うつ様行動を制御するニューロステロイド合成システム

研究課題名(英文)The system of neurosteroid synthesis regulates the depressive-like behavior

研究代表者

山本 悠太 (Yamamoto, Yuta)

和歌山県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：00580672

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：ラットにおいて、うつ様行動は強制水泳試験により広く測定されているが、動物の個体差がうつ様行動を引き起こす手技よりも強いうつ様行動を示すことがある。そこで、100匹程度のラットのうつ様行動を調べ、うつ様行動の高い個体と平均的な個体を抽出し前頭前野と小脳において遺伝子発現変化を解析し、発現の変化する神経ステロイド合成酵素遺伝子の探索を行ったが良好な結果を認めなかった。そこで統計学的手法を用いて更なるメカニズムを解析したところ神経ペプチドの成長ホルモンの著明な発現減少を小脳および前頭前野で認めた。この結果より、成長ホルモンは新規のうつ様行動関連遺伝子となる可能性が考えられる。

研究成果の概要(英文)：Depressive-like behaviors in animals are usually assessed by standardized behavioral tests such as the forced swimming test (FST). However, individual variation in test performance may obscure group differences and thereby hinder the discovery of genes responsible for depression. Few reports have shown the influence of individual variability in identifying the genes associated with depressive-like behaviors. In this study, we conducted microarray analysis to identify genes differentially expressed in the prefrontal cortex (PFC) and cerebellum of rats stratified by FST immobility ratio into a control group and a depressive group. Eleven genes were differentially expressed in both the cerebellum and PFC of the depressive group. Ingenuity Pathway Analysis identified Gh1 as a hub gene in the networks of differentially expressed genes in both brain regions. This study indicates that the depressive-like behavior may be related to the decrease of Gh1 expression in the cerebellum and PFC.

研究分野：システムバイオロジー

キーワード：うつ様行動 小脳 マイクロアレイ パスウェイ解析 成長ホルモン

1. 研究開始当初の背景

うつ病の研究では、これまでシナプスでのモノアミンが欠乏することによって、うつ病の病態が形成されるというモノアミン仮説が提唱され、特にセロトニンとノルアドレナリンの関与が指摘されていた。抗うつ薬の投与により、これらモノアミンの濃度低下は短時間で抑えられるが、うつ病の改善には比較的長期間かかるため、モノアミン仮説だけで、うつ病のメカニズムは説明することが出来ない。

そこで、申請者はうつ病の病態形成に関わる新たなメカニズムを解明するため、うつ様行動が減少するカロリー制限マウスを作製した。このマウスでは扁桃体に顕著な遺伝子発現の変化が認められ、パスウェイ解析により、 α -アドレナリンおよびドーパミンのシグナルが関与していることを見出した (Yamamoto et al. *Physiological Genomics*, 2009)。うつ様行動の減少に関与する遺伝子を特定するためには、他のモデル動物にも共通して変化する遺伝子を検出する必要がある。申請者は、うつ様行動が減少する、インターロイキン 18 ノックアウトマウスで、カロリー制限マウスの場合と同様に扁桃体に顕著な遺伝子発現の変化が認められ、この遺伝子の中にバソプレッシンやオキシトシンなどのニューロペプチド遺伝子が含まれることを見出した (Yamamoto et al. *Journal of Neuroimmunology*, 2010)。

これらの研究では、うつ様行動が減少した二種類のモデルマウスに共通して遺伝子の発現が最も変化する脳部位は扁桃体であること、およびこの部位で変化する神経伝達物質の合成に関わる遺伝子が複数存在することがわかったが、その中には二種類のモデルに共通した遺伝子は見出せなかった。うつ様行動との関係が示唆されている神経伝達物質には、モノアミンやニューロペプチド以外に、ニューロステロイドが存在するが、ニューロステロイドによる、うつ様行動の制御機構については、これまでほとんど解析されていない。また、ニューロステロイドを合成する酵素の局在については、いくつかの形態学的な報告もあるが、一致した結果は得られていない。

2. 研究の目的

本研究では、うつ様行動が増加または減少するモデル動物を用い、発現が変化するニューロステロイド合成酵素と、この変化が認められる細胞を見出し、うつ様行動の制御に関与するニューロステロイドの合成システムと、このシステムにより制御される部位を特定する。

3. 研究の方法

100匹程度の正常 Wistar ラットのうつ様行動を強制水泳試験により解析を行い、うつ様行動が強い個体と平均的な個体を抽出した。抽

出した個体から前頭前野および小脳サンプルを採取しマイクロアレイおよびリアルタイム PCR にて各脳部位においてうつ様行動の高い群で発現変化する遺伝子を解析した。これにより見出された遺伝子群についてパスウェイ解析を行い統計学的に関連性が高い生物学的な機能や既知のシグナルパスウェイの探索を行った。

4. 研究成果

106 匹の雄性成熟 Wistar ラット (10 週令) のうつ様行動を強制水泳試験により解析したところ、うつ様行動の指標である不動時間が正規分布し、また水泳速度と不動時間の相関関係が認められなかったため、本研究で用いた動物におけるうつ様行動量は正規分布しており、運動機能の変化によるものではないことを認めた。このため、この母集団より、うつ様行動を示す群と平均的な群を抽出し小脳および前頭前野にて網羅的な遺伝子発現解析を行った。うつ様行動を示す動物の各脳部位において 100 から 200 程度の遺伝子の発現が認められた。これらの遺伝子群を Ingenuity Pathway Analysis というパスウェイ解析アプリケーションを用いて統計学的に関連性が高い生物学的な機能や既知のシグナルパスウェイの探索を行ったところ成長ホルモン遺伝子を中心とした遺伝子発現変化が起きていることを認め、これら脳部位に共通して成長ホルモン遺伝子の発現減少を中心とした遺伝子ネットワークを初めて見出した。本研究では当初うつ様行動に関連するニューロステロイドを探索するというコンセプトで研究を開始したが、結果的にはうつ様行動との関連性が認められたニューロペプチドを見出すことに成功し、うつ様行動を制御する新たな脳部位に小脳および前頭前野がなる可能性を本研究で明らかにすることに成功した。

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 7 件)

1. Ueyama T, Donishi T, Ukai S, Yamamoto Y, Ishida T, Tamagawa S, Hotomi M, Shinosaki K, Yamanaka N, Kaneoke Y. Alterations of Regional Cerebral Blood Flow in Tinnitus Patients as Assessed Using Single-Photon Emission Computed Tomography. *PLoS ONE* 10(9): e0137291.
2. Down-regulation of growth hormone 1 gene in the cerebellum and prefrontal cortex of rats with depressive-like behavior. Yamamoto Y, Ueyama T, Ito T, Tsuruo Y *Physiological Genomics* 2015 May 1; 47(5):170-6.
3. Nrf2-induced anti-oxidation stress response in the liver - New beneficial

- effect of Lansoprazole. Yamashita Y, Ueyama T, Nishi T, Yamamoto Y, Kawakoshi A, Sunami S, Iguchi M, Tamai H, Ueda K, Ito T, Tsuruo Y, Ichinose M PLoS One. 2014 May 20;9(5):e97419.
4. Is gastrectomy-induced high turnover of bone with hyperosteoidosis and increase of mineralization a typical osteomalacia? Ueyama T, Yamamoto Y, Ueda K, Yajima A, Maeda Y, Yamashita Y, Ito T, Tsuruo Y, Ichinose M. PLoS ONE 8(6): e65685.
 5. A DEAD-box RNA helicase Ddx54 protein in oligodendrocytes is indispensable for myelination in the central nervous system Zhan R, Yamamoto M, Ueki T, Yoshioka N, Tanaka K, Morisaki H, Seiwa C, Yamamoto Y, Kawano H, Tsuruo Y, Watanabe K, Asou H, Aiso S: J Neurosci Res. 91: 335-348, 2013.
 6. Role of miR-19b and its target mRNAs in 5-fluorouracil resistance in colon cancer cells. Kurokawa K, Tanahashi T, Iima T, Yamamoto Y, Akaike Y, Nishida K, Masuda K, Kuwano Y, Murakami Y, Fukushima M, Rokutan K. J Gastroenterol. 2012 Aug;47(8):883-95.
 7. A new monoclonal antibody, 4F2, specific for the oligodendroglial cell lineage, recognizes ATP-dependent RNA helicase Ddx54: possible association with myelin basic protein. Ueki T, Tsuruo Y, Yamamoto Y, Yoshimura K, Takanaga H, Seiwa C, Motojima K, Asou H, Yamamoto M. J Neurosci Res. 2012 Jan;90(1):48-59.
 - 8.

〔学会発表〕(計 7件)

1. うつ行動を制御する小脳-小脳発達障害モデルによるアプローチ- 山本悠太、伊藤隆雄、上山敬司 第 121 回日本解剖学会総会 2016.3.28 福島県郡山市
2. Identification of Novel Responsible Genes for the Depressive-like Behavior in Microarray and Pathway Analyses. Yamamoto Y and Ueyama T. 11th Symposium on catecholamine and other neurotransmitters in stress, Smolenis (Slovakia), 2015
3. うつ様行動を示すラット小脳にて Gh1 の発現が減少する 山本悠太、伊藤隆雄、上山敬司、鶴尾吉宏 第 3 回ニューロカンファレンス和歌山 2015.1.11 和歌山県和歌山市
4. うつ様行動を示すラット小脳にて Gh1 の発現が減少する 山本悠太、伊藤隆雄、上

山敬司、鶴尾吉宏第 36 回日本生物学的精神医学会年会 2014.9.30 奈良県奈良市

5. DOWN-REGULATION OF GH1 IN DEPRESSIVE-LIKE BEHAVIORAL RAT. Yamamoto Y, Shiba A, Ito T, Ueyama T and Tsuruo Y. 21st Multidisciplinary International Neuroscience and Biological Psychiatry “Stress and Behavior” Conference, St. Petersburg (Russia), 2014
6. うつ様行動を示すラット小脳では Gh1 の発現が減少する 山本悠太、志波歩美、伊藤隆雄、上山敬司、鶴尾吉宏 第 36 回日本分子生物学会年会 2013.12.5 兵庫県神戸市
7. うつ様行動を示すラット小脳では Gh1 の発現が減少する 山本悠太、志波歩美、伊藤隆雄、上山敬司、鶴尾吉宏 第 119 回日本解剖学会総会 2014.3.28 栃木県下野市

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織
(1)研究代表者
山本 悠太(Yuta Yamamoto)
和歌山県立医科大学・医学部・助教
研究者番号：00580672

(2)研究分担者
()

研究者番号：

(3)連携研究者 ()

研究者番号：