

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 11 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24791193

研究課題名(和文)脳血管障害によるストレス脆弱性の病態基盤の解明

研究課題名(英文)Elucidation of pathophysiology of stress vulnerability by cerebrovascular deficits

研究代表者

吉崎 嘉一 (YOSHIZAKI, Kaichi)

東北大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：50393161

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円、(間接経費) 990,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、脳血管障害によるストレス脆弱性の臨界期の同定を試みた。野生型マウスに偽手術あるいは左総頸動脈永久結紮手術(以下、結紮手術)を施し、直後または2週間後から2週間のストレスホルモン投与後にうつ病関連の行動試験を実施した。その結果、スクロース参照試験において先行研究と同様に、偽手術および結紮手術の両群ともに4週間のストレスホルモン投与により十分なうつ病様行動異常を示した。興味深いことに、結紮手術群では、手術の2週間後からの2週間のみストレスホルモン投与で十分なうつ病様行動異常を示した。これらの結果より、脳血管障害によるストレス脆弱性にはその慢性期に臨界期があることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：In the present study, we tried to identify critical period for stress vulnerability by cerebrovascular deficits. Mice were subjected to sham or left unilateral common carotid artery occlusion (UCCAO), and were, immediately or after two weeks, exposed to glucocorticoid, a kind of stress hormone, for two weeks. Then the mice were performed behavioral analyses related to depression. In the result, mice with both sham and left UCCAO exhibited depressive-like behavior in sucrose preference test when exposed to glucocorticoid for four weeks. Intriguingly mice with left UCCAO exhibited depressive-like behavior when exposed to glucocorticoid for last two weeks. These results suggest that there might be critical period for stress vulnerability during chronic phase after cerebrovascular deficits.

研究分野：神経行動学

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：血管性うつ病 ストレス脆弱性 臨界期

1. 研究開始当初の背景

脳血管障害後にうつ病が出現することは古くから知られているが、欧米では『脳卒中後うつ病 post-stroke depression (PSD)』として、1970年代から実証的な研究が積み重ねられている。一方で、高齢者のうつ病患者では、高血圧や一過性虚血性発作等の脳血管障害を疑う臨床所見が多く認められること、また、MRI等による脳画像診断の進歩・発展により、高齢者のうつ病患者において、健常対象者と比較してMRIで同定される白質高信号が多いことが報告されている。これらの研究成果を基にして、1997年に脳血管性の器質的要因を伴ううつ病として『血管性うつ病 vascular depression; VDep』の概念が提唱され、大脳皮質下白質領域における微小な脳血管障害がうつ病の発症あるいは発症脆弱性、持続性に関与する可能性が考えられた。しかしながら、このような微小な脳血管障害は無症状であることも多く、その発症時期を特定することは極めて困難であることから、うつ病の病態との因果関係を時系列に検討することは極めて難しく、現在までに脳血管障害がどのようにうつ病の病態に貢献するのかわかりかについては明らかにされていない。

申請者らはこれまでに、実験動物(マウス)を用いて血管性うつ病仮説について検証してきた。野生型マウス(C57BL6/J、オス、12週齢)に対して左側総頸動脈永久結紮手術(以下、結紮手術)を施し、その直後からストレスホルモンの1つであるグルココルチコイド(5mg/kg/day)を飲水投与し、施術4週間後にうつ病関連行動解析を実施した。その結果、ストレス負荷しない場合においては、結紮手術を施したマウスは、解析した全てのうつ病関連行動試験において、うつ病様行動異常を示さなかった。一方で、ストレス負荷した場合においては、結紮手術を施したマウスは、偽手術を施したマウスと比較して、一部のうつ病関連行動試験において明らかうつ病様行動異常を示した。これらの結果より『血管性うつ病仮説』を検証すると、大脳皮質下白質領域における微小な脳血管障害はうつ病の発症に直接的に影響するのではなく、ストレス脆弱性を引き起こすことによりうつ病の発症脆弱性に寄与する可能性が示唆された。

2. 研究の目的

そこで本研究では、これまでに検討してきた血管性うつ病モデル動物を用いて、脳血管障害がどのようにしてストレス脆弱性を規定するのか、その病態基盤について検討することを目的とする。これまでに、高齢者うつ病患者における剖検脳解析から、前頭葉皮質においてミクログリアの増大や血管内皮細

胞に炎症を疑うような所見が見受けられることから、高齢者うつ病における『炎症』の関与が示唆される。そこで本研究では、脳血管障害によるストレス脆弱性の病態基盤における『炎症』の関与について解明することを目的とする。そこで、(1)脳血管障害によるストレス脆弱性の極大期について検討する。脳血管障害後の急性期ないし慢性期のみストレス負荷を施し、うつ病関連行動解析を実施することにより、脳血管障害後のどの時期にストレス脆弱性が極大化するのかについて行動学的評価を実施する。また、(2)ストレス脆弱性を惹起する脳血管障害閾値と炎症との関連性について検討する。これまでの研究では、血管性うつ病を発症した患者に認められる脳血管障害の程度と実験動物においてストレス脆弱性を引き起こす脳血管障害の程度にどの程度の解離があるのか明らかではない。そこで、これまでの総頸動脈永久結紮手術に加えて、内径の異なる工業用微小コイルを用いる片側総頸動脈永久狭窄手術を施すことにより様々な程度の脳血管障害モデルを作成し、さらにストレス負荷を施し、うつ病関連行動解析を実施することにより、どの程度の脳血管障害までがストレス脆弱性を規定するのかについて明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 脳血管障害によるストレス脆弱性の臨界期についての解析

野生型マウス(C57BL6/J、オス、12週齢)に対して偽手術あるいは左側総頸動脈永久結紮手術(以下、結紮手術)を施し、直後あるいは2週間後から2週間ストレスホルモンの1つであるグルココルチコイド(5mg/kg/day in 0.45% EtOH)を飲水投与した。上記以外の期間には、溶媒(0.45% EtOH)のみを飲水投与した。手術から4週間後にうつ病関連行動解析(スクロース消費試験・新規環境食餌試験)を実施した。ポジティブコントロールとして4週間の慢性グルココルチコイドを飲水投与し、ネガティブコントロールとして4週間溶媒(0.45% EtOH)のみを飲水投与した。

(2) ストレス脆弱性を惹起する脳血管障害の閾値についての解析

野生型マウス(C57BL6/J、オス、12週齢)に対して偽手術あるいは左側総頸動脈永久狭窄手術(以下、狭窄手術)(内径0.16および0.20mm)を施し、直後から4週間ストレスホルモンの1つであるグルココルチコイド(5mg/kg/day in 0.45% EtOH)を飲水投与した。ポジティブコントロールとして4週間の慢性グルココルチコイドを飲水投与し、ネガティブコントロールとして4週間溶媒

(0.45% EtOH)のみを飲水投与した。手術の4週間後にうつ病関連行動解析(スクロース消費試験・新規環境食餌試験)を実施した。

4. 研究成果

(1) 脳血管障害によるストレス脆弱性の臨界期についての解析

これまでの研究と同様に、非ストレス負荷群では偽手術群あるいは結紮手術群において、スクロース消費試験におけるスクロース参照および新規環境食餌試験における食餌までの遅れに有意な変化を認めなかった。ストレス負荷群においても同様に、4週間の慢性グルココルチコイドの飲水投与により、偽手術群および結紮手術群では共にスクロース消費試験におけるスクロース参照率の低下を認めた。一方で、新規環境食餌試験においては、偽手術群と比較して結紮手術群において食餌までの遅れが長くなる傾向が示された。脳血管障害によるストレス脆弱性の臨界期を同定する実験において、偽手術群では、手術直後あるいは手術2週間後から2週間までのグルココルチコイドの飲水投与では、スクロース参照率の低下を示さなかった。一方で結紮手術群では、手術直後から2週間のグルココルチコイドの飲水投与では、偽手術群と同様にスクロース参照率の変化を示さなかったが、手術2週間後から2週間のグルココルチコイドの飲水投与により、スクロース参照率の低下傾向を示した。一方で新規環境食餌試験においては、いずれの期間のグルココルチコイドの飲水投与においても2週間のストレス負荷では十分なうつ病様行動異常は観察されなかった。これらの結果より、脳血管障害によるストレス脆弱性は、一部のうつ病様行動異常において、その慢性期に臨界期がある可能性が示唆された。

(2) ストレス脆弱性を惹起する脳血管障害の閾値についての解析

これまでに報告を参考に、工業用コイル(内径0.16, 0.20 mm)を購入し、野生型マウスに対する片側総頸動脈永久狭窄手術(以下、狭窄手術)の習得を目指した。予備検討の結果、各内径の工業用コイルについて狭窄手術を実施し(n=6~7)、1匹あたりの平均手術時間は約15分で、1週間以内の死亡率は0%であった。現在、偽手術あるいは狭窄手術を施した野生型マウスに対して慢性グルココルチコイドの飲水投与によるうつ病関連行動試験を進めている。

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2件)

1. Guo N., Yoshizaki K., Kimura R., Suto F., Yanagawa Y., Osumi N., A sensitive period for GABAergic interneuron in the dentate gyrus in modulating sensorimotor gating., *J Neurosci.*, 2013 Apr 10;33(15):6691-704. doi:10.1523/JNEUROSCI.0032-12.2013. 査読有.

2. Suzuki J., Yoshizaki K., Kobayashi T., Osumi N., Neural crest-derived cells as tissue stem cells in the adult olfactory epithelium. *Neurosci Res.*, 2013 Feb;75(2):112-20. doi:10.1016/j.neures.2012.11.005. 査読有.

[学会発表](計18件)

1. 木村龍一, 吉崎嘉一, 稲田仁, 大隅典子, 父親の高齢化がマウスの自閉症様行動異常に及ぼす影響の解析, 第3回東北脳科学ウィークスクール 大崎 2014年2月15日.

2. Yoshizaki K., Kimura R., Inada H., Osumi N., Pax6 deficiency accelerates onset of an autistic behavior by advanced paternal age in the mouse. 第36回日本分子生物学会 神戸 2013年12月5日.

3. Yoshizaki K., Kimura R., Inada H., Osumi N., Paternal aging decreases pups' mother call in the mouse with acceleration by Pax6 haploinsufficiency: insight on genetic and epigenetic influence. Society for Neuroscience, Cell symposium, Networked Brain, San Diego, 2013 Nov. 7th.

4. Yoshizaki K., Osumi N., A study for the influence of virtual exercise on adult hippocampal neurogenesis. Neurogenesis International Symposium, Matsushima, 2013 Oct. 17th.

5. 鈴木淳, 大島猛史, 吉田尚弘, 木村龍一, 吉崎嘉一, 高田雄介, 大和田祐二, 小林俊光, 大隅典子, 脂肪酸結合タンパク質の蝸牛における機能解析-聴覚アンチエイジングモデルマウスの発見-, 第5回聴覚アンチエイジング研究会 東京 2013年7月6日.

6. 鈴木淳, 大島猛史, 吉田尚弘, 木村龍一, 吉崎嘉一, 高田雄介, 大和田祐二, 小林俊光, 大隅典子, 脂肪酸結合タンパク質(Fabp)の蝸牛における機能解析-加齢性難聴になりにくいマウスの発見-, 第13回日本抗加齢医学会総会 横浜 2013年6月29日.

7. Yoshizaki K., Wakita H., Osumi N., Influence of chronic subcortical ischemia on anhedonia-like behavior in mice. 第11回 WFSBP 京都 2013年6月24日.

8. Yoshizaki K., Kimura R., Osumi N., Pax6 modulates predisposition of autism by advanced paternal age in mouse. 第36回日本神経科学会 京都 2013年6月22日.
9. Kimura R., Yoshizaki K., Sugiyama T., Suzuki J., Nakamura R., Osumi N., The effect of Pax6 haploinsufficiency on mouse ultrasonic vocalization. 第36回日本神経科学会 京都 2013年6月22日.
10. Yoshizaki K., Kimura R., Wakita H., Osumi N., Subcortical ischemia in the left hemisphere exacerbates depressive phenotypes; a mouse model for vascular depression. 第55回日本神経化学大会 神戸 2012年10月1日.
11. 木村龍一, 吉崎嘉一, 鈴木淳, 中村龍司, 大隅典子, Behavioral analysis of Pax6 heterozygous mutant mice. 第34回生物学的精神医学会 神戸 2012年9月28日.
12. Yoshizaki K., Osumi N., Influence of simulated experience of exercise on adult hippocampal neurogenesis. 第35回日本神経科学会 名古屋 2012年9月21日.
13. Kimura R., Yoshizaki K., Suzuki J., Nakamura R., Osumi N., Analysis of ultrasonic vocalization in Pax6 heterozygous mutant mice. 第35回日本神経科学会 名古屋 2012年9月21日.
14. Nakamura R., Haba H., Katsuyama Y., Yoshizaki K., Osumi N., Pax6 affects distribution of interneuron in prefrontal cortex of mice. 第35回日本神経科学会 名古屋 2012年9月21日.
15. Yoshizaki K., Kimura R., Wakita H., Osumi N., Subcortical ischemia in the left hemisphere involved in actualization of stress-induced anhedonia-like behavior. 包括脳ネットワーク夏のワークショップ 仙台 2012年7月26日.
16. 木村龍一, 吉崎嘉一, 鈴木淳, 中村龍司, 大隅典子, Behavioral analysis of Pax6 heterozygous mutant mice. 包括脳ネットワーク夏のワークショップ 仙台 2012年7月26日.
17. 中村龍司, 勝山裕, 吉崎嘉一, 羽場英弥, 大隅典子, 胎生期由来介在ニューロンの発生に対する転写制御因子Pax6の関与について 包括脳ネットワーク夏のワークショップ 仙台 2012年7月26日.

〔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
吉崎 嘉一 (Yoshizaki Kaichi)
東北大学・大学院医学系研究科・助教
研究者番号：50393161

(2)研究分担者
該当なし()
研究者番号：

(3)連携研究者
該当なし()
研究者番号：