

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 6 日現在

機関番号：82611

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26430082

研究課題名(和文) うつ病の病態及び治癒機転におけるリゾホスファチジン酸シグナル伝達への役割

研究課題名(英文) Lysophosphatidic acid induces anxiety-like behavior via its receptors in mice

研究代表者

山田 光彦 (Yamada, Mitsuhiko)

国立研究開発法人国立精神・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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：これまでに、うつ病の治癒機転に関連するラット脳内遺伝子を網羅的に探索した結果、リゾホスファチジン酸(LPA)シグナル伝達に関わる遺伝子を複数同定した。そこで本研究では、LPAによる情動行動変化を明らかにするために、LPAをマウス脳室内に投与後に種々の情動行動試験を行った。その結果、LPA受容体を介して不安/うつ様行動が惹起することが明らかとなった。また、LPA受容体拮抗薬を海馬腹側へ局所投与した結果、抗不安様行動が起こること、細胞外グルタミン酸及びGABA濃度が増加することが明らかとなった。以上の結果より、LPAシグナル伝達系が情動行動調節に関与することが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：We previously reported that altered expression of the LPA-related genes in rodents after treatment with a selective serotonin reuptake inhibitor, sertraline, which is widely used to treat depression. However, little is known about the behavioral effects of LPA. In the present study, we investigated the effects of LPA on emotional behaviors in adult mice. Intracerebroventricular injection of LPA induced behavioral changes in mice hole-board test, elevated plus maze test and forced swim test, through LPA receptors. Interestingly, administration of a LPA receptor antagonist BrP-LPA into the ventral hippocampus produced anxiolytic-like effect in mice. In vivo microdialysis experiments revealed that local perfusion of BrP-LPA in the ventral hippocampus induced increase in extracellular glutamate and GABA levels. In conclusion, LPA signaling plays important roles in emotional behaviors in mice.

研究分野：精神神経薬理学

キーワード：抗うつ薬 情動行動

## 1. 研究開始当初の背景

現在、うつ病の治療は、主に抗うつ薬による薬物治療が行われている。うつ病の治癒機転は、抗うつ薬による臨床効果発現までに数週間を要することから神経可塑的变化が関与すると考えられるが、未だ明らかとなっていない。

これまでに申請者は、うつ病の治癒機転に関連するラット脳内遺伝子を網羅的に探索した結果、リゾホスファチジン酸(LPA)シグナル伝達に関わる遺伝子や LPA を修飾する遺伝子を複数同定した。LPA は、7 回膜貫通型 LPA 受容体と結合し、低分子量 G タンパク質 Rho を活性化する。活性型 Rho のターゲットの 1 つである Rho キナーゼ (ROCK)により LIM キナーゼ (LIMK2) がリン酸化され、続いて cofilin がリン酸化され、アクチン骨格再構成によるスパインの形態変化が起こる。また、ROCK により神経伝達物質の開口放出関連タンパクの修飾による機能変化が起こる。申請者は、うつ病の治癒機転に重要な遺伝子として、上記遺伝子に加えて、Rho の他のターゲットである rhotekin、LPA を脱リン酸化する Prg1 を同定した。LPA に関連する遺伝子が複数同定されたことから、LPA シグナル伝達がうつ病に関連するとの着想に至った。

## 2. 研究の目的

本研究では、LPA シグナル伝達系の情動行動への影響を検討することを目的とした。はじめに、LPA をマウス脳室内に投与したときの種々の情動行動における効果を明らかとした。また、LPA 受容体アンタゴニスト BrP-LPA の脳内局所投与による情動行動変化を検討した。さらに、LPA による情動行動変化のメカニズムを明らかにするため、BrP-LPA の海馬腹側への局所灌流による

細胞外グルタミン酸及び GABA の濃度変化を検討した。

## 3. 研究の方法

### (1) LPA の脳室内投与による情動行動変化

C57BL6N マウス脳室内に LPA (Sigma-Aldrich)を投与し、30 分後に自発運動量測定試験、ホールボード試験、高架式十字迷路試験、強制水泳試験、Y 字迷路試験を行った。

### (2) BrP-LPA の脳内局所投与による情動行動変化

C57BL6N マウスに BrP-LPA (Echelon)を海馬腹側に微量投与し、30 分後に高架式十字迷路試験を行った。

### (3) BrP-LPA の局所灌流による細胞外グルタミン酸、GABA 濃度変化

腹側海馬に BrP-LPA を 30 分間局所灌流し、細胞外グルタミン酸及び GABA 濃度をマイクロダイアリシス法により測定した。

## 4. 研究成果

### (1) LPA の脳室内投与による情動行動変化 LPA の自発運動活性に対する検討

LPA の脳室内投与が自発運動活性に及ぼす影響を検討した。LPA を投与したマウスでは、対照群と比較して、総移動距離、立ち上がり回数ともに影響が見られなかった(図 1)。このことより、この濃度の LPA は運動機能に影響を及ぼさないことが明らかとなった。

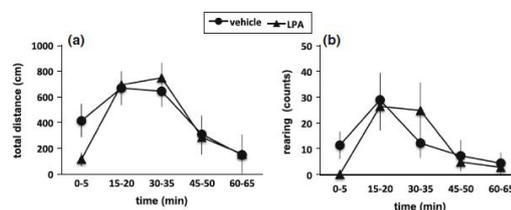


図 1 LPA による自発運動活性に対する影響 LPA (1.5 nmol/5 $\mu$ L) を脳室内投与し、経時的に自発運動量を測定した。

## ホールボード試験を用いた LPA の情動行動に対する検討

LPA 脳室内投与による情動行動に対する影響を検討した。LPA 投与群では、濃度依存的(図 2) 時間依存的(図 3)に head dip count を増加したことから、情動行動変化を誘発することが明らかとなった。さらに、LPA の head dip count の増加は、受容体拮抗薬の BrP-LPA で拮抗されたことから、LPA 受容体を介していることが明らかとなった(図 4)。

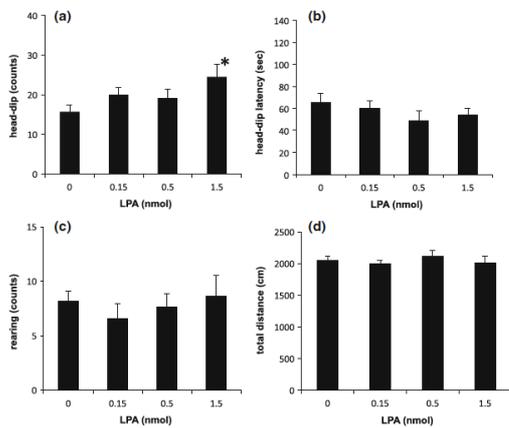


図 2 LPA による情動行動変化 各濃度の LPA をマウス脳室内に投与し、30 分後にホールボード試験を行った。

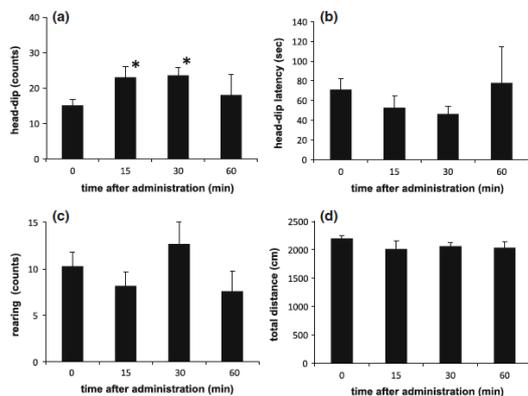


図 3 LPA による経時的情動行動変化 LPA (1.5 nmol/5uL) をマウス脳室内に投与し、15, 30, 60 分後にホールボード試験を行った。

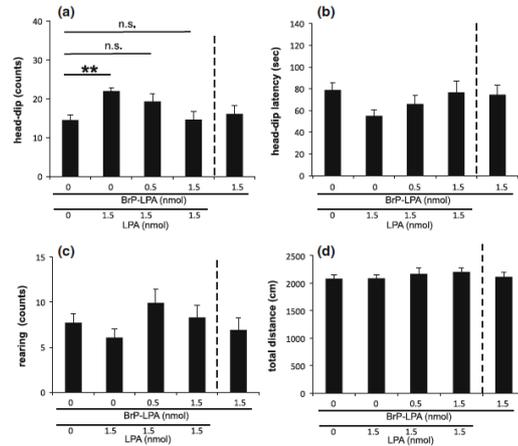


図 4 LPA による情動行動に対する BrP-LPA の影響 LPA (1.5 nmol) および各濃度の BrP-LPA をマウス脳室内に投与し、30 分後にホールボード試験を行った。

## 高架式十字迷路試験を用いた LPA の不安様行動に対する検討

LPA 脳室内投与による不安様行動に対する影響を検討した。LPA 投与群では、濃度依存的にオープンアームの滞在率が減少した(図 5)。さらに、LPA のオープンアームの滞在率の減少は、BrP-LPA で拮抗されたことから、LPA 受容体を介していることが明らかとなった(図 6)。

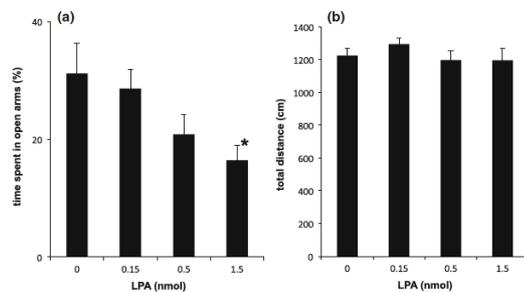


図 5 LPA の不安様行動に対する影響 各濃度の LPA をマウス脳室内に投与し、30 分後に高架式十字迷路試験を行った。

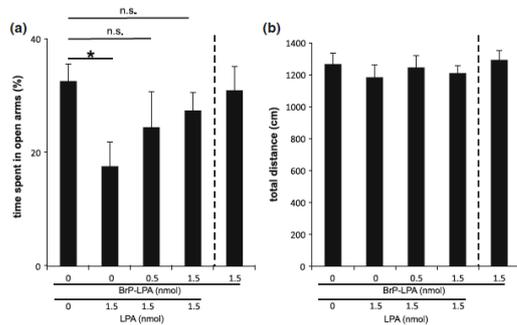


図 6 LPA による不安様行動に対する BrP-LPA の影響 LPA (1.5 nmol) および各濃度の BrP-LPA をマウス脳室内に投与し、30 分後に高架式十字迷路試験を行った。

#### 強制水泳試験を用いた LPA の水泳行動に対する検討

LPA 脳室内投与による水泳行動に対する影響を検討した。LPA (0.5 nmol/5 $\mu$ L) を投与したマウスでは、対照群マウスと比較して、無動時間が有意に延長し、水泳行動時間が有意に短縮した。

#### Y-maze 試験を用いた LPA の短期記憶に対する検討

LPA 脳室内投与による短期記憶に対する影響を検討した。LPA (0.5 nmol/5 $\mu$ L) を投与したマウスでは、対照群マウスと比較して、自発的交替行動率に変化がなかった。

以上のことより、LPA は運動機能や記憶に影響することなく情動行動を変化させることが明らかになった。

#### (2) BrP-LPA の脳内局所投与による情動行動変化

BrP-LPA を海馬腹側に微量投与し、高架式十字迷路試験を行った。その結果、BrP-LPA の濃度依存的に open arm の滞在時間率が増加し抗不安様作用が認められた。

このことから、LPA 受容体の阻害により情動行動が変化すること、LPA シグナル伝達系による情動行動調節に海馬腹側が関与していることが明らかとなった。

#### (3) BrP-LPA の局所灌流による細胞外グルタミン酸、GABA 濃度変化

LPA シグナル伝達系による情動行動変化のメカニズムを明らかにするために、マイクロダイアリシス法を行い、BrP-LPA の海馬腹側への局所灌流による細胞外グルタミン酸および GABA 濃度変化を検討した。その結果、BrP-LPA により細胞外グルタミン酸および GABA 濃度の増加が認められた。このことから、LPA シグナル伝達系の調節による情動行動変化の一部に、神経伝達物質の濃度変化が関与する可能性が示唆された。

以上のことから、LPA シグナル伝達系が情動行動調節に関与することが明らかとなった。一方 LPA は、血液、脳脊髄液などの採取可能な生体サンプル中に存在し、簡便な測定方法が確立している。そこで、ヒトへのトランスレーショナルリサーチとして、LPA がうつ病のバイオマーカーとなる可能性を提示した。

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

(1) Lysophosphatidic acid induces anxiety-like behavior via its receptors in mice. [Yamada M](#), [Tsukagoshi M](#), [Hashimoto T](#), [Oka J](#), [Saitoh A](#), [Yamada M](#). J Neural Transm. 122, 487-94. 2015. DOI: 10.1007/s00702-014-1289-9. 査読有

〔学会発表〕(計 8 件)

脳室内投与されたリゾホスファチジン酸は

受容体を介してマウスの不安様行動を誘発する 塚越麻衣、山田美佐、岡淳一郎、斎藤顕宜、山田光彦 2014.7.5. 第 130 回日本薬理学会関東部会 東京 星薬科大学

気分障害における脂質メディエーター リゾホスファチジン酸の役割についての検討 後藤玲央、斎藤顕宜、塚越麻衣、山田美佐、岡淳一郎、山田光彦 2014.10.17-18. 第 33 回躁うつ病の薬理・生化学的研究懇話会 福岡県筑紫野市大丸別荘

脂質メディエーター リゾホスファチジン酸がマウスの情動行動に及ぼす影響 (Effects of lysophosphatidic acid on emotional behaviors in mice) 塚越麻衣、山田美佐、岡淳一郎、斎藤顕宜、山田光彦 2014.11.20-22. 第 24 回臨床精神神経薬理学会・第 44 回神経精神薬理学会 合同年会 名古屋国際会議場

リゾホスファチジン酸シグナル伝達系の情動行動に及ぼす検討 塚越麻衣、山田美佐、後藤玲央、岡淳一郎、斎藤顕宜、山田光彦 2015.3.17. 第 24 回神経行動薬理学会若手研究者の集い 名古屋 名城大学

リゾホスファチジン酸受容体拮抗薬 BrP-LPA のマウス腹側海馬への局所投与は抗不安様作用を示す 斎藤顕宜、塚越麻衣、山田美佐、後藤玲央、岡淳一郎、山田光彦 2015.9.24-26. 第 45 回日本神経精神薬理学会・第 37 回日本生物学的精神医学会 合同年会 東京都江戸川区 タワーホール船堀

Intracerebroventricularly injected LPA induces anxiety-like behavior in mice via its receptors. Possible roles of LPA in depression and

anxiety disorders – Gotoh L, Saitoh A, Yamada M., Tsukagoshi M, Oka J, Yamada M. 2015.7.28-31. 第 38 回日本神経科学大会 神戸国際会議場

うつ病バイオマーカーとしてのリゾホスファチジン酸の可能性 後藤玲央、山田美佐、斎藤顕宜、服部功太郎、功刀 浩、樋口輝彦、山田光彦 第 13 回日本うつ病学会 2016.8.5-6 ウィンクあいち(愛知県産業労働センター) 名古屋市

脳脊髄液中のリゾホスファチジン酸はうつ病バイオマーカーとなり得るか 後藤玲央、山田美佐、斎藤顕宜、服部功太郎、功刀浩、樋口輝彦、川崎弘詔、山田光彦 2016.11.4-5 山口県湯田温泉 第 35 回躁うつ病の薬理・生化学的研究懇話会

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

山田 光彦 (YAMADA MITSUHIKO)

国立研究開発法人国立精神・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)

国立研究開発法人 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)

国立研究開発法人国立精神・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