

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 25 日現在

機関番号：15501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26860930

研究課題名(和文) microRNAがもたらす神経可塑性変化によって抗うつ効果が発揮されるか？

研究課題名(英文) Hippocampal microRNA-124 enhances chronic stress resilience in mice

## 研究代表者

樋口 文宏 (HIGUCHI, Fumihiro)

山口大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：60711249

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：様々な精神疾患の病態にエピジェネティックな遺伝子発現調整異常が示唆されており、microRNAもその一つである。

慢性ストレス負荷したうつ病モデルマウス(CUMSマウス)の脳海馬組織においてmicroRNA-124(miR-124)の発現量低下がみられ、抗うつ薬慢性投与により発現は改善した。またCUMSマウス海馬にmiR-124を過剰発現させておくとうつ様行動は改善した。またmiR-124の標的分子であるHDAC4, HDAC5, GSK3 の発現を抑制することでCUMSマウスのうつ様行動は改善した。

以上から、miR-124およびその標的分子のうつ病への関連が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We examined if altered expression of non-coding microRNAs (miRNAs) contributes to the depression-like behaviors associated with chronic stress.

Mice exposed to chronic ultra-mild stress (CUMS) exhibited increased depression-like behaviors as well as reduced hippocampal expression of the brain-enriched miRNA-124 (miR-124). Aberrant behaviors and dysregulated miR-124 expression were blocked by chronic treatment with an antidepressant drug.

Viral-mediated miR-124 overexpression in hippocampal neurons conferred behavioral resilience to CUMS. Moreover, we identified histone deacetylase 4 (HDAC4), HDAC5, and glycogen synthase kinase 3 (GSK3) as targets for miR-124 and found that intra-hippocampal infusion of a selective HDAC4/5 inhibitor or GSK3 inhibitor had antidepressant-like actions on behavior. We propose that miR-124-mediated post-transcriptional controls of HDAC4/5 and GSK3 expressions in the hippocampus have pivotal roles in susceptibility/resilience to chronic stress.

研究分野：気分障害

キーワード：microRNA-124 気分障害

1. 研究開始当初の背景

近年、気分障害をはじめとする様々な精神疾患の病態にエピジェネティックな遺伝子発現調整異常が示唆されており、microRNA もその一つである。

microRNA はタンパク質をコードしていない約 20 塩基程度の低分子量の RNA で、標的 mRNA の 3' UTR 領域に配列特異的に対合することにより標的タンパク質の発現を抑制する。microRNA は神経科学領域ではアルツハイマー病やハンチントン舞踏病との関与が報告されており、またシナプス可塑性やスパイン産生に必須な microRNA が存在することも報告されている。しかし microRNA の高次脳機能に対する役割の解析は少ない。

今回我々は当研究室が独自に確立したうつ病モデルマウスの脳海馬組織において microRNA 発現量を検討したところ、うつ状態のマウスでの microRNA-124(miR-124)の発現量低下と、抗うつ薬投与したマウスの miR-124 発現量の回復がみられた。そのため、miR-124 がうつ病の病態に関与している可能性が示唆された。

2. 研究の目的

うつ病の病態はセロトニンやノルアドレナリンといったモノアミンによる作用で説明される事が多いが、抗うつ薬の効果発現が遅いことからモノアミン以外の病態仮説が提唱されてきており、神経可塑性仮説もその一つである。

miR-124 は神経細胞の分化を制御しているという報告や、シナプス可塑性と関与しているという報告がなされており、miR-124 と神経可塑性との関連が明らかにされつつある。またうつ病における神経可塑性異常は以前より報告されており、miR-124 による神経可塑性がうつ病と関連している可能性が考えられる。

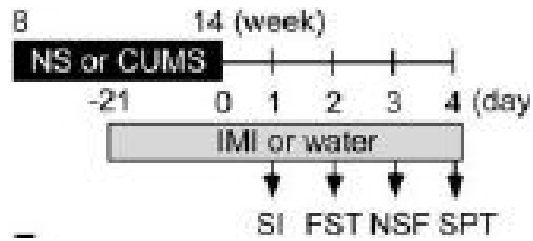
上記に基づき、本研究では miR-124 が関与するうつ病の病態メカニズムを神経可塑性仮説仮説をふまえて分子レベルで検討することとした。

3. 研究の方法

BALB/c マウスにおいて、慢性ストレス(CUMS)を負荷したマウス(以下 CUMS マウス)とストレス負荷していないマウス(以下 NS マウス)を使用した。

(1)上記マウスに対して、抗うつ薬(イミプラミン: IMI)や阻害剤(miR-124 阻害剤、HDAC4 阻害剤、HDAC5 阻害剤、GSK3 阻害剤)といった薬剤の投与や、ウイルスベクターによる microRNA-124 過剰発現を行った。

(2)上記マウスに 4 種類の行動解析(social interaction test (SIT), sucrose preference test(SPT), forced swim test (FST), novelty-suppressed feeding test(NSFT))を行い、うつ様行動を解析した。

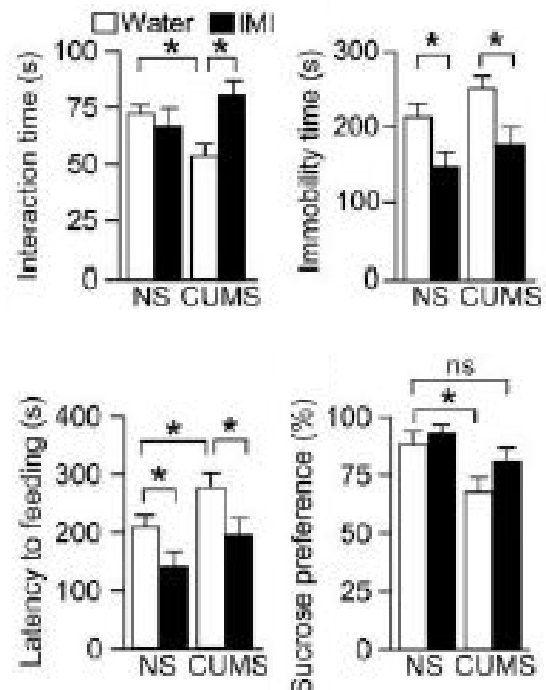


(3) ゴルジ染色法を用いて、海馬歯状回における granule neuron のスパイン密度を測定した。

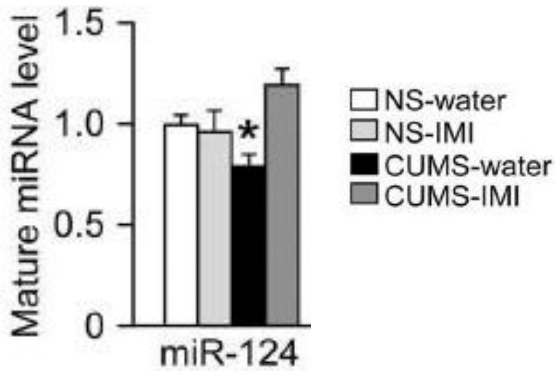
(4)上記マウスの海馬組織を採取し、定量的リアルタイム PCR 法やノザンプロットング法やウェスタンプロットング法を用いて miR-124、HDAC4、HDAC5、GSK3 の発現解析を行った。

4. 研究成果

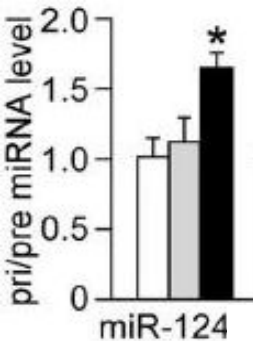
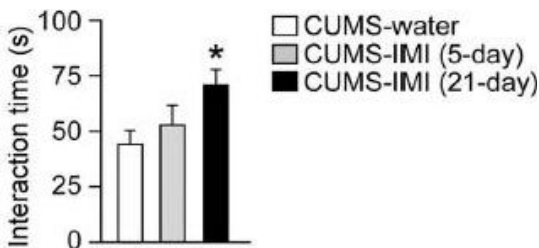
(1)CUMS マウスはNS マウスと比較して行動解析でうつ様行動を示し、抗うつ薬を慢性投与することでうつ様行動は改善した。



CUMS マウスの海馬では miR-124 発現は減少していた、そして慢性の抗うつ薬投与によって減少した miR-124 発現は回復した。

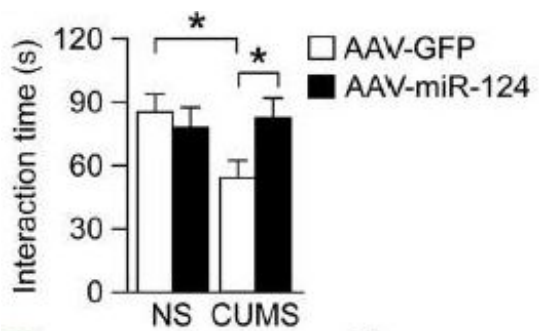
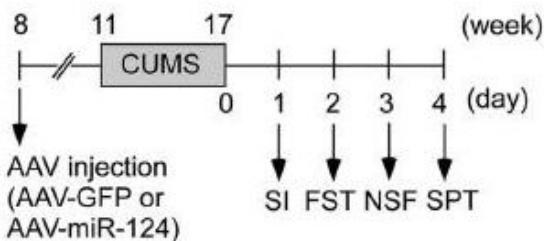


抗うつ薬投与は短期間(5 日間)ではうつ様行動や miR-124 発現を変化させることはなく、慢性投与(21 日間)によって両者は変化した。

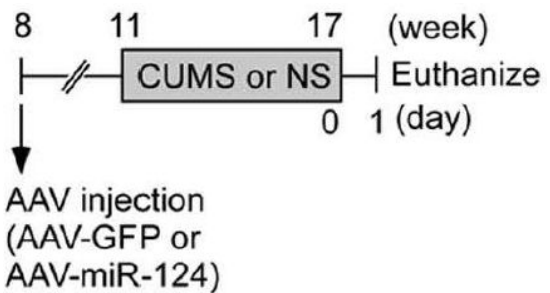


(2) NS マウス海馬において、ウイルスベクターによる miR-124 過剰発現や、阻害剤による miR-124 発現抑制を行っても、うつ様行動はみられなかった。

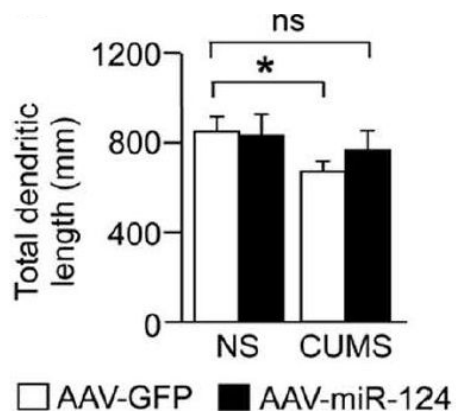
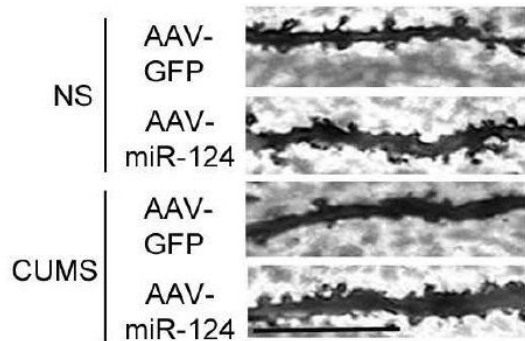
しかし、海馬でウイルスベクターによる miR-124 過剰発現を行っておくと、CUMS マウスのうつ様行動がみられなくなった。



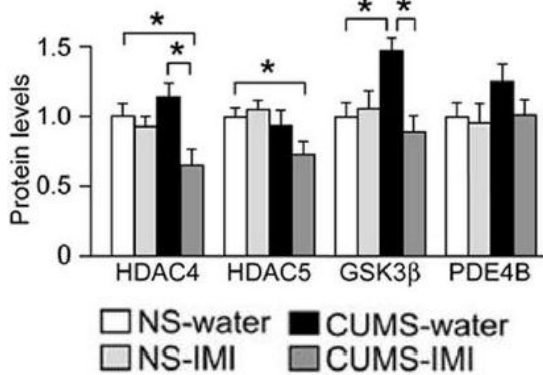
(3) ゴルジ染色法を用いて、NS マウスと CUMS マウスの海馬歯状回における granule neuron の長さやスパイン密度を測定した。



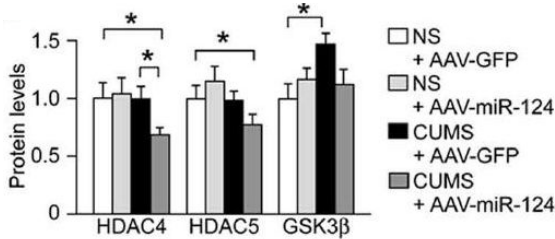
CUMS マウスでは granule neuron の長さやスパイン密度は低下していた。しかし海馬でウイルスベクターによる miR-124 過剰発現を行っておくと、長さや密度の低下は見られなかった。



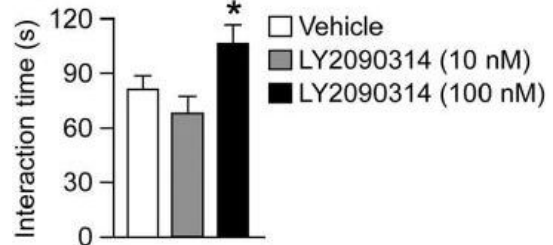
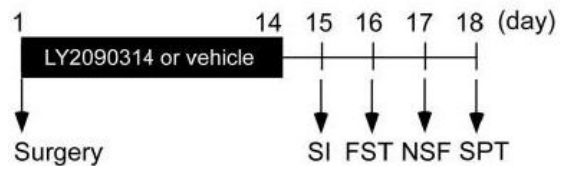
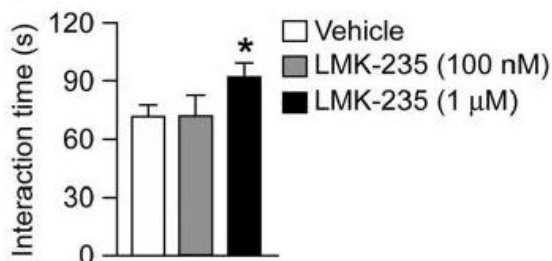
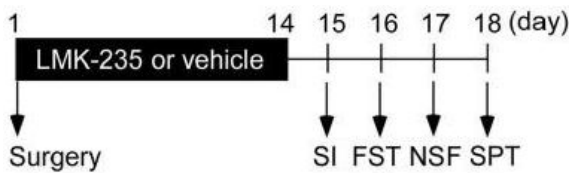
(4)HDAC4、HDAC5、GSK3 といった miR-124 の標的分子は、CUMS マウスの海馬で発現変化がみられた。



また、CUMS マウスの海馬で miR-124 過剰発現すると、これらの標的分子の発現は抑制された。



そして、これら標的分子の阻害剤 (LMK-235 : HDAC4 と HDAC5 の阻害剤) (LY2090314 : GSK3 の阻害剤) が抗うつ薬と同様にうつ様行動を回復させる効果を示すことを発見した。



以上から、miR-124 およびその標的分子の神経可塑性とうつ病への関連が示唆された。

#### 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 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

樋口文宏

うつ様行動と神経科組成における  
MicroRNA -124 と HDAC7 の役割の解析  
第 36 回生物学的精神医学会  
2014 年 9 月 29 日 ~ 10 月 1 日  
奈良県文化会館 (奈良県奈良市)

〔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

樋口 文宏 (HIGUCHI , Fumihiro)  
山口大学・大学院医学系研究科・助教  
研究者番号：6 0 7 1 1 2 4 9

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし