

## 163. 精神機能の発達に対する海馬神経新生の役割の解明

内田 周作

山口大学 医学部附属病院 精神科神経科

Key words : うつ病, ストレス, 海馬, 神経新生

### 緒言

近年のストレス社会を背景に、うつ病などの精神疾患患者が急増している。従って、うつ病発症の分子基盤研究やうつ病治療の方法論はもちろんのこと、うつ病の罹患を予防するための方法論を動物モデルによって明らかにし、その結果を社会に広く還元していくことが重要である。うつ病の発症には遺伝的要因のみならず環境的要因（ストレス）が大きく作用していることが推測されている。すなわち、うつ病患者は慢性的なストレスに対して適応することができずにうつ状態に陥るといった“ストレス脆弱性仮説”が支持されている。しかしながら、いつ・どこで・どのようなメカニズムでストレス脆弱性が形成されるのかについては全く不明である。最近、うつ病などの精神疾患の病態に対して、成体海馬における神経新生の役割が注目されている。慢性ストレスを負荷したマウスは海馬神経新生の低下を認め、逆に抗うつ薬投与によって神経新生が増加することが知られている。しかし、海馬神経新生と行動との関連研究は専ら成体になった動物を用いており、脳発達段階における海馬神経新生とストレス脆弱性との関連は未だに不明である。そこで本研究では、ストレス脆弱性の形成機構に対する脳発達段階における海馬神経新生の役割を検討した。

### 方法、結果および考察

ストレス反応の異なる2系統の近交系マウスを用いて神経新生の違いが認められるかを検討した。我々のグループはこれまでに、C57BL/6 (B6) マウスに6週間にわたる慢性ストレスを負荷しても何らうつ様行動・不安行動の増加を示さない一方、BALB/c (BALB) マウスに同様のストレスを負荷した場合、うつ様行動が増加していたことを報告している<sup>1)</sup>。そこで本研究では、B6 マウスをストレス耐性マウス、BALB マウスをストレス脆弱性マウスとして用いた。実際、これら2系統のマウスに慢性ストレスを負荷して強制水泳試験と新奇摂食抑制試験を行ったところ、強制水泳試験において、慢性ストレス負荷後のBALB マウスはB6 マウスに比べて有意に無動時間が長く、うつ様行動が増加していることが示唆された(図1A)。新奇摂食抑制試験において、慢性ストレス負荷後のBALB マウスはB6 マウスに比べて有意にエサを食べるまでの時間が長く、不安行動が増加していることが示唆された(図1B)。

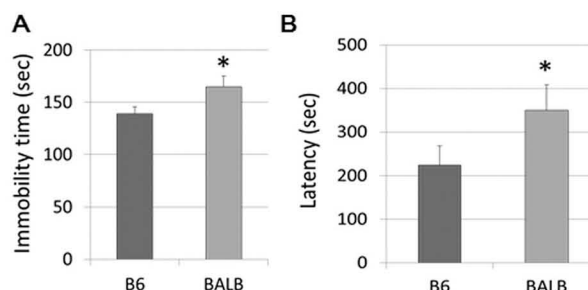


図1. ストレス脆弱性マウス

C57BL/6 (B6) マウスとBALB/c (BALB) マウスに6週間の慢性ストレスを負荷し、強制水泳試験 (A) と新奇摂食抑制試験 (B) を行った結果。Error bar: SEM. Asterisk:  $p < 0.05$  (Student *t*-test) .

次に、2系統のマウスの幼若期（3週齢）海馬歯状回における神経新生を免疫染色法により用いて検討した。5-ethynyl-2'-deoxyuridine (EdU) をマウスに投与して2時間後の海馬 EdU レベルを測定した結果、BALB マウスは B6 マウスに比べて有意に EdU レベルが減少していた（図 2A と 2B）。また、未成熟神経細胞のマーカである doublecortin (DCX) 抗体を用いた免疫染色法の結果、幼若期 BALB マウスの DCX レベルは幼若期 B6 マウスに比べて有意に減少していた（図 2C）。

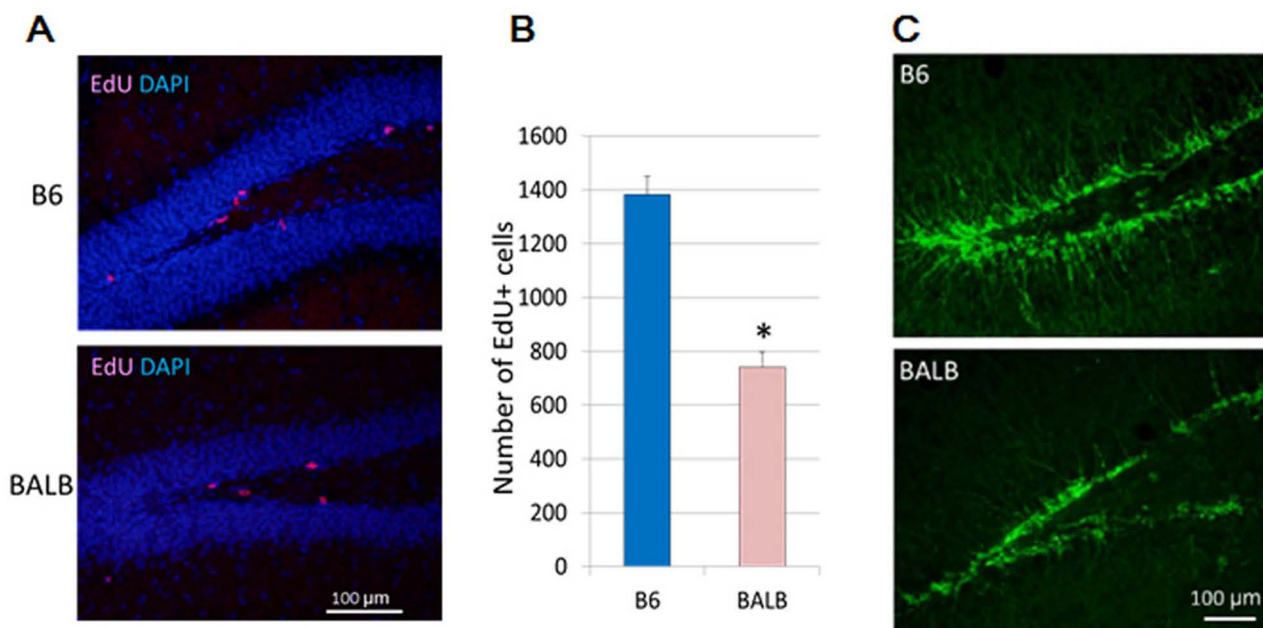


図 2. ストレス反応性の異なるマウスにおける神経新生

(A and B) 幼若期（3週齢）の C57BL/6 (B6) マウスと BALB/c (BALB) マウスにおける EdU 染色の結果。Error bar: SEM. Asterisk:  $p < 0.05$  (Student *t*-test). (C) 幼若期（3週齢）の B6 マウスと BALB マウスにおける DCX 染色の結果。

そこで、幼若期の BALB マウスの神経新生を亢進させると成体期におけるストレス反応が変化するかを検討した。3週齢の BALB マウスにメマンチンを3週間にわたって腹腔内投与（1週間に3回投与）した。先行研究の通り<sup>2)</sup>、メマンチン投与により海馬神経細胞は増加していた（図 3）。

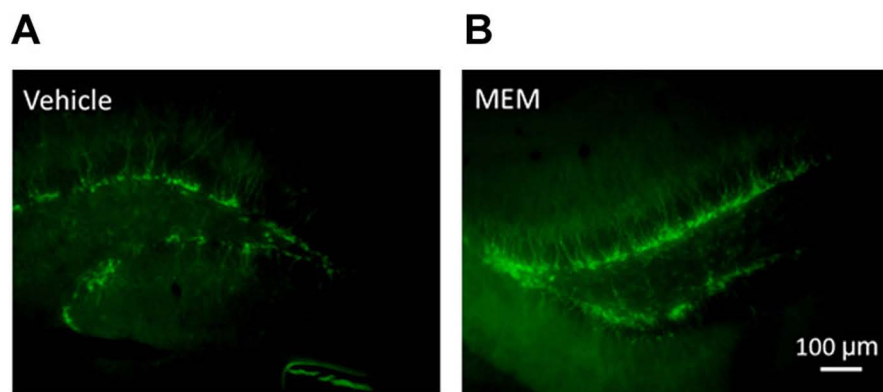


図3. メマンチン投与による神経新生亢進

幼若期（3週齢の）BALB/c（BALB）マウスに3週間メマンチン（MEM）を投与した。8週齢のマウス海馬における神経新生をDCX染色により検討した。

8週齢のメマンチン投与マウスに慢性ストレスを負荷し、その後うつ様行動を解析した。強制水泳試験を行ったところ、メマンチン投与群の無動時間は溶媒投与群と比べて低下傾向にあるものの、有意差は認められなかった（図4A）。新奇摂食抑制試験において、メマンチン投与群のエサを食べるまでの時間は溶媒投与群に比べて有意に短縮していた（図4B）。

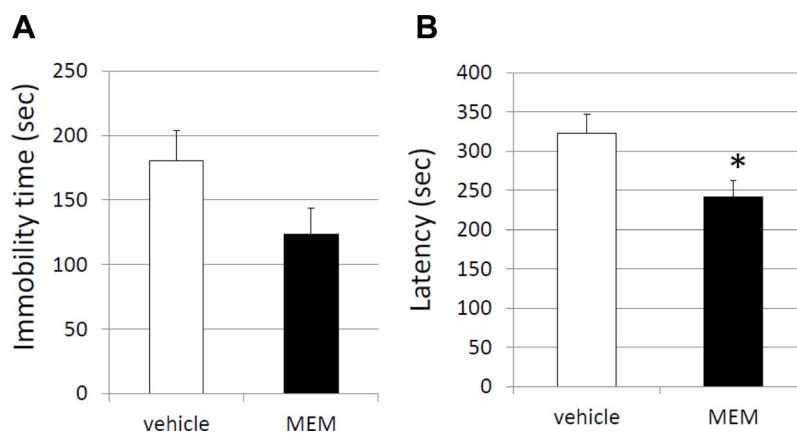


図4. メマンチン投与マウスにおけるストレス反応性

幼若期（3週齢の）BALB/c（BALB）マウスに3週間メマンチン（MEM）を投与した。8週齢のマウスに5週間の慢性ストレスを負荷し、強制水泳試験（A）と新奇摂食抑制試験（B）を行った。Error bar: SEM. Asterisk:  $p < 0.05$  (Student *t*-test) .

本研究により、ストレス脆弱性を有するBALBマウスはストレス耐性マウスに比べて幼若期の海馬神経新生が減少していることが示された。メマンチンを投与することで幼若期BALBマウスの神経新生を亢進させたところ、成体期にストレスを負荷しても不安様行動の増加は認められなかった。一方、強制水泳試験におけるうつ様行動は減少傾向にあるものの有意差を認めなかった。以前から海馬神経新生とうつ様行動・不安行動との関連は指摘されていたものの<sup>3, 4)</sup>、幼若期の海馬神経新生と成体期におけるストレス反応性との関連は不明であった。今回の結果から、幼若期海馬神経新生は成体期のストレス反応、特に不安行動制御に対して重要な役割を担っていることが示唆された。今後、幼若期の神経新生に関わる分子を同定することでストレス脆弱性の分子基盤が明らかとなることが期待できる。

## 共同研究者

本研究の共同研究者は、山口大学大学院医学系研究科の渡辺義文および芳原輝之である。最後に、本研究にご支援賜りました上原記念生命科学財団に深く感謝いたします。

## 文 献

- 1) Uchida S, Hara K, Kobayashi A, Otsuki K, Yamagata H, Hobara T, et al. Epigenetic status of Gdnf in the ventral striatum determines susceptibility and adaptation to daily stressful events. *Neuron*. 2011;69(2):359-372. doi: 10.1016/j.neuron.2010.12.023. PMID:21262472.
- 2) Akers KG, Martinez-Canabal A, Restivo L, Yiu AP, De Cristofaro A, Hsiang HL, et al. Hippocampal neurogenesis regulates forgetting during adulthood and infancy. *Science*. 2014; 344(6184):598-602. doi: 10.1126/science.1248903. PMID:24812394.
- 3) David DJ, Samuels BA, Rainer Q, Wang JW, Marsteller D, Mendez I, et al. Neurogenesis-dependent and -independent effects of fluoxetine in an animal model of anxiety/depression. *Neuron*. 2009; 62(4):479-493. doi: 10.1016/j.neuron.2009.04.017. PMID:19477151.
- 4) Airan RD, Meltzer LA, Roy M, Gong Y, Chen H, Deisseroth K: High-speed imaging reveals neurophysiological links to behavior in an animal model of depression. *Science*. 2007; 317(5839):819-823. PMID:17615305.