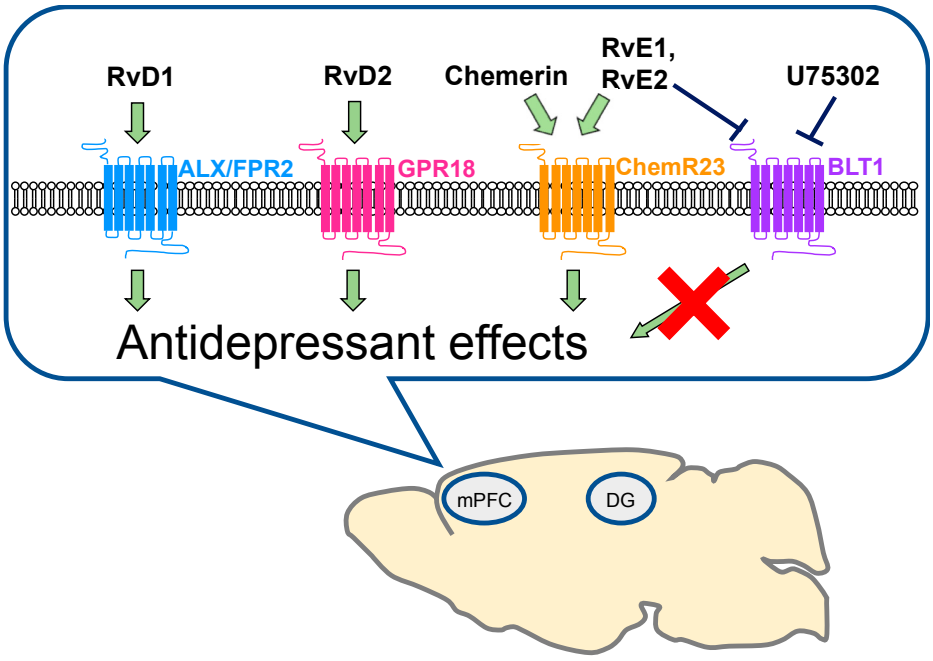
147　レゾルビン類の抗うつ作用機序の解明	出山　諭司

【目的】近年、NMDA 受容体拮抗薬ケタミンが、既存薬にはない即効性の抗うつ作用を示すことが明らかになった。ケタミン自体の抗うつ薬としての臨床応用は、依存性などの副作用のため制約があるが、ケタミンの抗うつ作用機序の解析から得られた知見を活かし、より安全な代替薬を見いだすことが、アンメットニーズを満たす近道であると考えられる。我々はこれまでに、ドコサヘキサエン酸由来の活性代謝物レゾルビン D1（RvD1）、D2（RvD2）、エイコサペンタエン酸由来のレゾルビン E1（RvE1）、E2（RvE2）が、ケタミンと同様に mTORC1 活性化を介して抗うつ作用を示すことを明らかにしてきた。新たな即効性抗うつ薬の創薬標的となる可能性があるレゾルビン類であるが、その抗うつ作用に関与する受容体や脳部位などは不明のままであった。そこで、今回これらの同定を試みた。

【方法】うつ病モデルとしてリポポリサッカライド誘発うつ病モデルマウスを用いた。レゾルビン類と各種薬物は、側脳室内、内側前頭前野（mPFC）内または海馬歯状回（DG）内に投与した。

【結果】chemerin 受容体 ChemR23 が RvE1 と RvE2 の抗うつ作用に関与している可能性を見いだした。また、RvD1 と RvD2 はそれぞれ、FPR2/ALX、GPR18 を介して抗うつ作用を示すことが明らかとなった。さらに、mPFC と DG がレゾルビン類の抗うつ作用に重要な脳部位であることが明らかとなった。

レゾルビン類の抗うつ作用に関与する受容体と脳部位



147. レゾルビン類の抗うつ作用機序の解明

出山　諭司

金沢大学 医薬保健研究域 薬学系 薬理学研究室

Key words：うつ病，抗うつ薬，内側前頭前野，海馬歯状回

緒　言

モノアミン神経系に作用する既存の抗うつ薬は効果発現までに数週間を要し、約 3 割の患者には奏功しないため（治療抵抗性うつ病）、新たな抗うつ薬の開発が喫緊の課題である。近年、NMDA 受容体拮抗薬ケタミンが即効性抗うつ作用を示すことが明らかになり、治療抵抗性うつ病にも有効であることから、ケタミンは新規抗うつ薬のプロトタイプとして注目されている。しかし、ケタミン自体の抗うつ薬としての臨床応用は、依存性や精神症状などの副作用のため制約がある。そこで、ケタミンの抗うつ作用機序の解析から得られた知見をもとに、より安全な代替薬を見いだすことが、アンメットメディカルニーズを満たす近道であると考えられる。

我々は、ドコサヘキサエン酸（DHA）やエイコサペンタエン酸（EPA）由来の活性代謝物レゾルビン類に着目し、これまでにリポポリサッカライド（LPS）誘発うつ病モデルマウス［1］において、DHA 由来のレゾルビン D1（RvD1）または D2（RvD2）、並びに EPA 由来のレゾルビン E1（RvE1）または E2（RvE2）が、側脳室内単回投与で抗うつ作用を示すこと、並びに、これらの抗うつ作用には、ケタミンと同様に［2］、mTORC1 活性化が重要であることを見いだしている。このように新たな即効性抗うつ薬の創薬標的となる可能性があるレゾルビン類であるが、その抗うつ作用に関与する受容体や脳部位など、作用機序について未解明な点が多く残されている。

RvE1 および RvE2 は、chemerin 受容体 ChemR23 にそれぞれアゴニスト、部分アゴニストとして作用するとともに、ロイコトリエン B4 受容体 BLT1 にアンタゴニストとして作用することが知られている［3］。また、RvD1 はホルミルペプチド受容体 2（FPR2/ALX）および GPR32（マウスでは未同定）にアゴニストとして［3］、RvD2 は GPR18 にアゴニストとして作用することが報告されている［4］。そこで本研究では、LPS 誘発うつ病モデルマウスを用いて、脳内のこれらの受容体を介してレゾルビン類が抗うつ作用を示すか否かを検討した。ChemR23 アゴニスト chemerin の側脳室内投与は抗うつ作用を示したが、BLT1 アンタゴニスト U75302 の側脳室内投与は抗うつ作用を示さなかった。これらの結果から、RvE1 と RvE2 の抗うつ作用には、ChemR23 が関与していることが示唆された。また、RvD1 の抗うつ作用は、FPR2/ALX アンタゴニストによって抑制され、RvD2 の抗うつ作用は、GPR18 アンタゴニストによって抑制された。これらの結果から、RvD1 と RvD2 は、それぞれ FPR2/ALX、GPR18 を介して抗うつ作用を示すことが明らかとなった。さらに、本研究では、うつ病の病態生理やケタミンの即効性抗うつ作用に重要な脳部位である内側前頭前野（mPFC）および海馬歯状回（DG）［2，5］に焦点をあて、レゾルビン類の抗うつ作用における両脳部位の役割について検討を行った。LPS 誘発うつ病モデルマウスの mPFC または DG 内に RvD1、RvD2 または RvE1 を投与することで抗うつ作用が発現したことから、mPFC および DG はレゾルビン類の抗うつ作用に重要な脳部位であることが明らかとなった。以上の成果は、これまでの研究成果と合わせて既に論文発表を行った［6，7］。

方　法

1. LPS 誘発うつ病モデルおよび薬物投与

実験には雄性 BALB/c マウス（8～12 週齢）を用い、LPS 誘発うつ病モデルを作製した［1］。ガイドカニューレ埋込手術後 7 日以上の回復期間を経た後、LPS（0.8 mg/kg）または saline を腹腔内投与した。RvD1、RvD2、RvE1、WRW4（FPR2/ALX アンタゴニスト）、O-1918（GPR18 アンタゴニスト）、chemerin または U75302 は、各実験の

タイムコースに従って、側脳室内、mPFC 内または DG 内に投与した（図 1A, 2A, 2D, 3A, 4A）。

2. 尾懸垂試験（tail suspension test: TST）

LPS 投与の 24 時間後にマウスの尾をテープで固定して逆さ吊りにし、6 分間の試験中の無動時間を自動計測した。無動時間の延長はうつ病様行動の発現を、無動時間の短縮は抗うつ作用の発現を示す。

3. 運動量測定（locomotor activity: LMA）

LPS 投与の 24 時間後にマウスを測定用ボックスに投入し、10 分間の試験中の総移動距離を自動解析した。

結果および考察

1. RvE1、RvE2 の抗うつ作用に関与する受容体の特定

LPS 投与群では、saline 投与群と比較して TST における無動時間が有意に延長し、うつ病様行動が認められた（図 1B, 1D）。LPS による無動時間の延長は、chemerin（50、500 ng）側脳室内投与により用量依存的に抑制されたが（図 1B）、U75302（10、50 ng）側脳室内投与では抑制されなかった（図 1D）。また、LPS、chemerin および U75302 は運動量に影響を及ぼさなかった（図 1C, 1E）。本研究結果、並びに、ChemR23 アゴニスト作用を有する RvE1（1 ng、側脳室内投与）のほうが、ChemR23 部分アゴニストである RvE2（10 ng、側脳室内投与）よりも低用量で抗うつ作用を示すことから［7］、RvE1 および RvE2 の抗うつ作用には、BLT1 アンタゴニスト作用ではなく、ChemR23 アゴニスト作用が関与していることが示唆された。

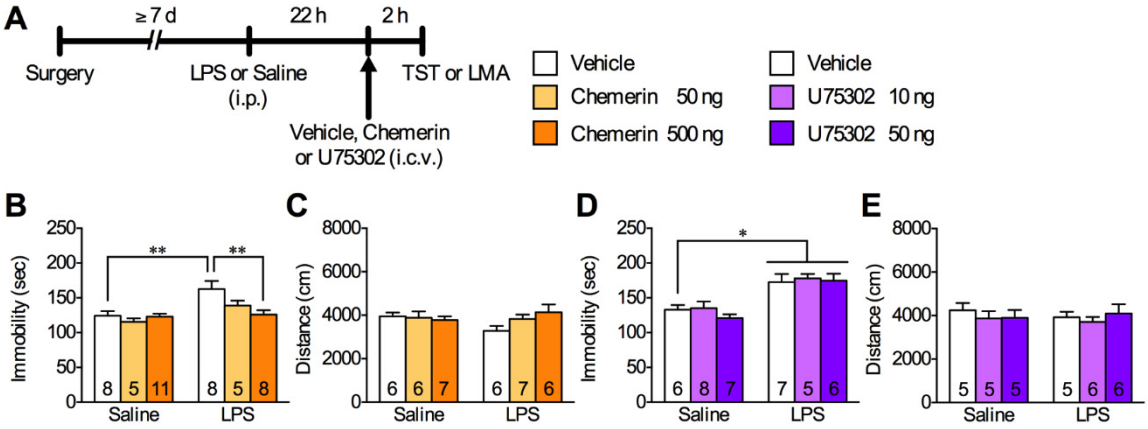


図 1. LPS 誘発うつ病モデルマウスに対する chemerin および U75302 側脳室内投与の効果

A）実験のタイムコース。B）LPS 誘発うつ病モデルマウスにおいて、ChemR23 アゴニスト chemerin 側脳室内投与は用量依存的に抗うつ作用を示した。C）LPS および chemerin は運動量に影響を及ぼさなかった。D）LPS 誘発うつ病モデルマウスにおいて、BLT1 アンタゴニスト U75302 側脳室内投与は抗うつ作用を示さなかった。E）LPS および U75302 は運動量に影響を及ぼさなかった。各カラム中の数値は例数を示す。*P < 0.05, **P < 0.01 (2-way ANOVA followed by Tukey's post hoc test）.

2. RvD1、RvD2 の抗うつ作用に関与する受容体の特定

LPS 誘発うつ病モデルマウスにおける RvD1（10 ng）側脳室内投与の抗うつ作用は、側脳室内への WRW4（10 μg）前投与により抑制されたが（図 2B）、RvD1 および WRW4 は運動量には影響を及ぼさなかった（図 2C）。また、LPS 誘発うつ病モデルマウスにおける RvD2（10 ng）側脳室内投与の抗うつ作用は、O-1918（10 μg）同時投与により抑制されたが（図 2E）、RvD2 および O-1918 は運動量には影響を及ぼさなかった（図 2F）。これらの結果から、RvD1 と RvD2 は、それぞれ脳内の FPR2/ALX と GPR18 を介して抗うつ作用を示すことが明らかとなった。

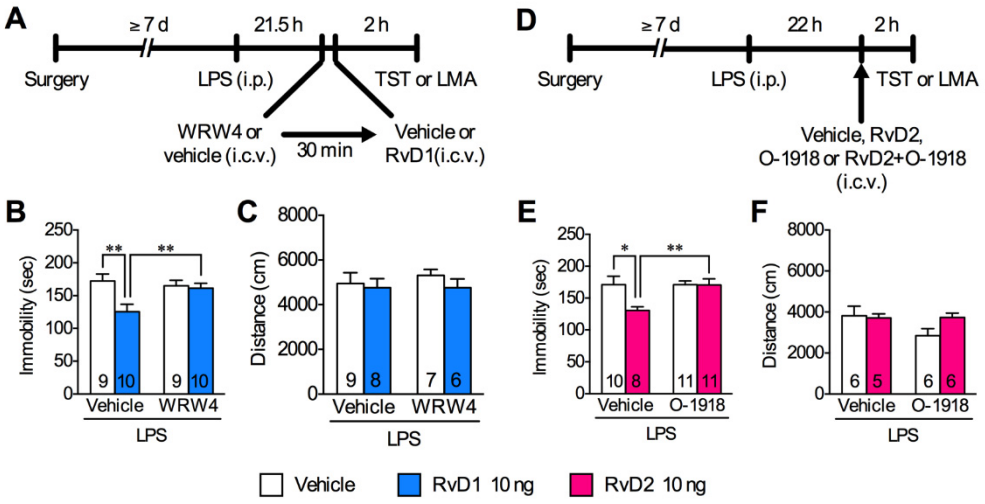


図 2. RvD1、RvD2 の抗うつ作用に関与する受容体の特定

A, D）各実験のタイムコース。B）LPS 誘発うつ病モデルマウスにおいて、RvD1 側脳室内投与の抗うつ作用は FPR2/ALX アンタゴニスト WRW4 前投与により抑制された。C）RvD1、WRW4 は運動量に影響を及ぼさなかった。E）LPS 誘発うつ病モデルマウスにおいて、RvD2 側脳室内投与の抗うつ作用は GPR18 アンタゴニスト O-1918 同時投与により抑制された。F）RvD2、O-1918 は運動量に影響を及ぼさなかった。各カラム中の数値は例数を示す。*P < 0.05, **P < 0.01（2-way ANOVA followed by Newman-Keuls post hoc test）.

3. レゾルビン類の抗うつ作用における mPFC の役割

レゾルビン類の抗うつ作用に mPFC が関与するか否かを明らかにするために、LPS 誘発うつ病様行動に対する mPFC 内 RvD1（0.3 ng/side）、RvD2（0.3 ng/side）または RvE1（50 pg/side）投与の効果を検討した。LPS 投与により、TST における無動時間が有意に延長し、うつ病様行動が惹起されたが、このうつ病様行動は mPFC 内 RvD1、RvD2 または RvE1 投与により有意に抑制された（図 3B, 3D）。一方、mPFC 内 RvD1、RvD2 または RvE1 投与は運動量に影響を及ぼさなかった（図 3C, 3E）。これらの結果から、mPFC が、RvD1、RvD2 および RvE1 の抗うつ作用に重要な役割を果たしていることが示唆された。

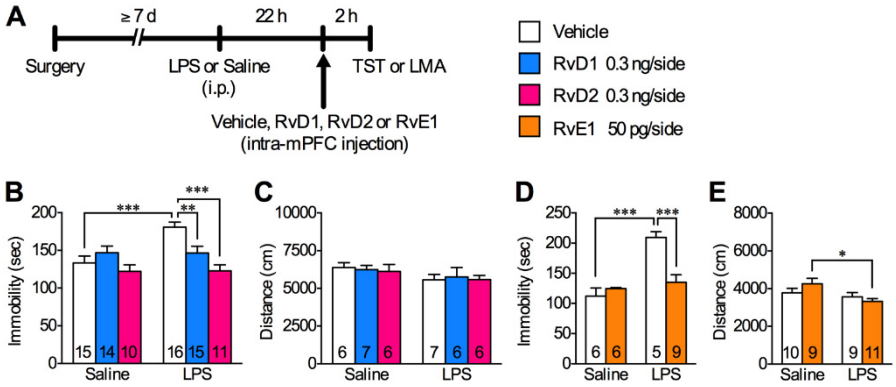


図 3. mPFC 内 RvD1、RvD2 または RvE1 投与による抗うつ作用

A）実験のタイムコース。B）LPS 誘発うつ病モデルマウスにおいて、mPFC 内 RvD1 または RvD2 投与は抗うつ作用を示した。C）LPS、および RvD1 または RvD2 の mPFC 内投与は運動量に影響を及ぼさなかった。D）LPS 誘発うつ病モデルマウスにおいて、mPFC 内 RvE1 投与は抗うつ作用を示した。E）saline + RvE1 群と LPS + RvE1 群の運動量の間に有意な差は認められたが、mPFC 内 RvE1 投与は運動量に影響を及ぼさなかった（interaction, P > 0.05; RvE1, P > 0.05）。各カラム中の数値は例数を示す。*P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001（2-way ANOVA followed by Neuman-Keuls post hoc test (B, C) or Tukey's post hoc test (D, E)）.

4. レゾルビン類の抗うつ作用における DG の役割

レゾルビン類の抗うつ作用に DG が関与するか否かを明らかにするために、LPS 誘発うつ病様行動に対する DG 内 RvD1（0.3 ng/side）、RvD2（0.3 ng/side）または RvE1（50 pg/side）投与の効果を検討した。LPS 投与により、TST における無動時間が有意に延長し、うつ病様行動が惹起されたが、このうつ病様行動は DG 内 RvD1、RvD2 または RvE1 投与により有意に抑制された（図 4B, 4D）。一方、DG 内 RvD1、RvD2 または RvE1 投与は運動量に影響を及ぼさなかった（図 4C, 4E）。これらの結果から、mPFC と同様に、DG が、RvD1、RvD2 および RvE1 の抗うつ作用に重要な役割を果たしていることが示唆された。

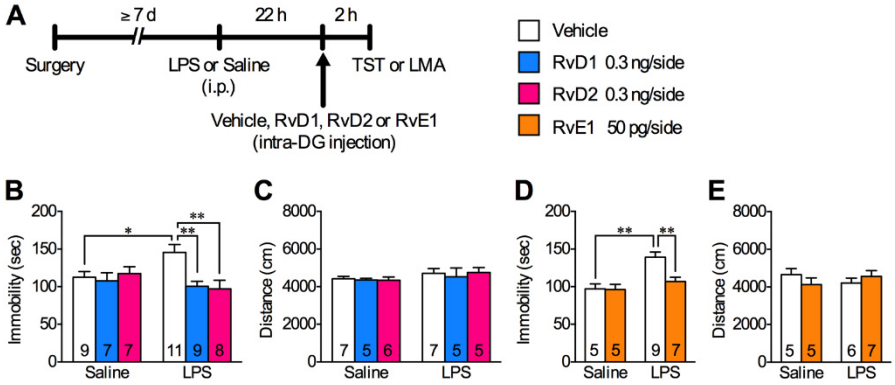


図 4. DG 内 RvD1、RvD2 または RvE1 投与による抗うつ作用

A）実験のタイムコース。B）LPS 誘発うつ病モデルマウスにおいて、DG 内 RvD1 または RvD2 投与は抗うつ作用を示した。C）LPS および DG 内 RvD1 または RvD2 投与は運動量に影響を及ぼさなかった。D）LPS 誘発うつ病モデルマウスにおいて、DG 内 RvE1 投与は抗うつ作用を示した。E）LPS および DG 内 RvE1 投与は運動量に影響を及ぼさなかった。各カラム中の数値は例数を示す。*P < 0.05, **P < 0.01　(2-way ANOVA followed by Neuman-Keuls post hoc test (B, C) or Tukey's post hoc test (D, E))．

共同研究者・謝辞

本研究の共同研究者は、金沢大学医薬保健研究域薬学系の金田勝幸博士、北海道大学大学院薬学研究院の南雅文博士、周東智博士、人羅菜津子博士、長崎大学大学院医歯薬学総合研究科の福田隼博士、東京都医学総合研究所の井手聡一郎博士、京都大学大学院薬学研究科の佐藤公道博士である。最後に、本研究にご支援を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) Dantzer R, O'Connor JC, Freund GG, Johnson RW, Kelley KW. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. Nat Rev Neurosci. 2008 Jan;9(1):46-56. PMID: 18073775 DOI: 10.1038/nrn2297

2) Li N, Lee B, Liu RJ, Banasr M, Dwyer JM, Iwata M, Li XY, Aghajanian G, Duman RS. mTOR-dependent synapse formation underlies the rapid antidepressant effects of NMDA antagonists. Science. 2010 Aug 20;329(5994):959-64. PMID: 20724638 DOI: 10.1126/science.1190287

3) Serhan CN, Chiang N. Resolution phase lipid mediators of inflammation: agonists of resolution. Curr Opin Pharmacol. 2013 Aug;13(4):632-40. Epub 2013 Jun 6. PMID: 23747022 DOI: 10.1016/j.coph.2013.05.012

4) Chiang N, Dalli J, Colas RA, Serhan CN. Identification of resolvin D2 receptor mediating resolution of infections and organ protection. J Exp Med. 2015 Jul 27;212(8):1203-17. Epub 2015 Jul 20. PMID: 26195725 DOI: 10.1084/jem.20150225

5) Choi M, Lee SH, Chang HL, Son H. Hippocampal VEGF is necessary for antidepressant-like behaviors but not sufficient for antidepressant-like effects of ketamine in rats. Biochim Biophys Acta. 2016 Jul;1862(7):1247-54. Epub 2016 Apr 6. PMID: 27063455 DOI: 10.1016/j.bbadis.2016.04.001

6) Deyama S, Ishikawa Y, Yoshikawa K, Shimoda K, Ide S, Satoh M, Minami M. Resolvin D1 and D2 reverse lipopolysaccharide-induced depression-like behaviors through the mTORC1 signaling pathway. Int J Neuropsychopharmacol. 2017 Jul 1;20(7):575-584. PMID: 28419244 DOI: 10.1093/ijnp/pyx023

7) Deyama S, Shimoda K, Suzuki H, Ishikawa Y, Ishimura K, Fukuda H, Hitora-Imamura N, Ide S, Satoh M, Kaneda K, Shuto S, Minami M. Resolvin E1/E2 ameliorate lipopolysaccharide-induced depression-like behaviors via ChemR23. Psychopharmacology (Berl). 2018 Jan;235(1):329-336. Epub 2017 Oct 31. PMID: 29090333 DOI: 10.1007/s00213-017-4774-7