

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 10 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461727

研究課題名(和文)酸化ストレスが精神疾患病態生理に果たす機能的重要性の解明；うつ病の敵か、味方か？

研究課題名(英文)Elucidating the functional significance of mild oxidative stress on adult rat brain: friend or foe?

研究代表者

戸田 重誠 (TODA, SHIGENOBU)

金沢大学・大学病院・講師

研究者番号：00323006

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：発生初期における酸化ストレス曝露は将来の脳脆弱性につながる。一方、成熟脳に対する酸化ストレスの影響については、これまで殆ど検討されていなかった。我々は、薬理的に一過性のマイルドな酸化ストレスを急性あるいは慢性にラットに負荷し、認知機能や意思決定に対する影響を検討した。その結果、慢性CHX負荷は、うつ病などの特定の精神疾患の表現系を模倣しなかったが、複数の行動指標に長期的な影響を与えることを確認した。

。CHXをコカインと同日に慢性投与したところ、投与終了3週間後に常同行動のみ増強した。この増強には個体差がなかった。従ってCHX同日負荷はコカイン依存を促進する作用があると考えられた。

研究成果の概要(英文)： Exposure of neonates to oxidative stress may increase the risk of psychiatric disorders such as schizophrenia in adulthood. However, the effects of moderate oxidative stress on the adult brain are not completely understood. To address this issue, we systemically administrated 2-cyclohexen-1-one (CHX) to adult rats to transiently reduce glutathione levels. As a result, we found that repeated administration of CHX to adult rats did not cause a specific mental disorder, but it induced long-term alterations in behavioral and cognitive functions, possibly related to specific neural correlates.

Repeated co-administration of CHX with cocaine to rats did not induce any additional effect while the administration. However, after a 3-weeks of withdrawal period, the animals displayed enhanced stereotypic without exception, suggesting that additional CHX treatment on cocaine strongly augmented late-developing behavioral sensitization.

研究分野：精神医学

キーワード：酸化ストレス 成熟ラット脳 行動精神薬理 依存症 グルタチオン

様式 C-19、F-19、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

精神疾患患者脳内で酸化ストレスが誘導されている、あるいは精神疾患を引き起こすような侵襲的なストレスで酸化ストレスが誘導されるとされており、酸化ストレスが精神疾患の発症を誘導あるいは症状を悪化させる要因と推定しているものが殆どである。しかし、酸化ストレスと抗酸化システム(=レドックス制御)の関係は非常に複雑で、酸化ストレスそのものが常に精神疾患を悪化させるのか、あるいはそれに拮抗するレドックス制御系が常に精神疾患を改善させるかはこれまで殆ど解明されていなかった。

2. 研究の目的

うつ病及び薬物依存動物モデルを用いて、脳内グルタチオン代謝を薬理的に操作し、酸化ストレスあるいはレドックス制御が、うつ病様あるいは依存症様表現型発現の病態生理にどのように関わるのかを明らかにする。

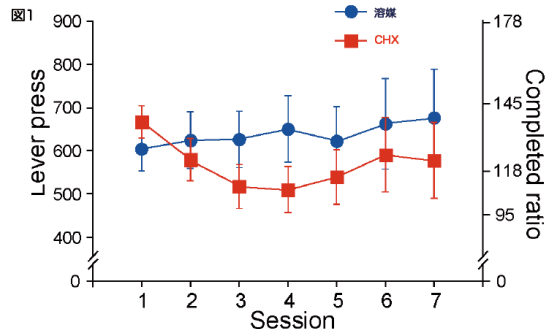
3. 研究の方法

(1) 薬理的に一過性にマイルドな酸化ストレスを誘導する薬剤

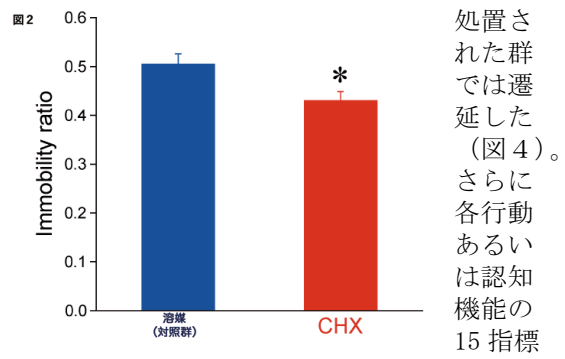
2-cyclohexene-1-one (CHX) を急性あるいは慢性にラットに全身投与し、意欲の指標となる progressive ratio 条件下での道具行動、ストレス負荷の指標である習慣化の促進や逆転学習の阻害、急性コカイン投与に対する反応性、及び強制水泳への影響を検討した。(2) 慢性コカイン投与による逆耐性現象モデルを用い、各コカイン投与の直前に CHX あるいは生食(対照群)を前処置し、1週間の慢性コカイン投与終了3週間後に逆耐性現象の進展と線条体内の機能的ドパミン輸送体(DAT)の発現量について対処群とCHX群で比較した。

4. 研究成果

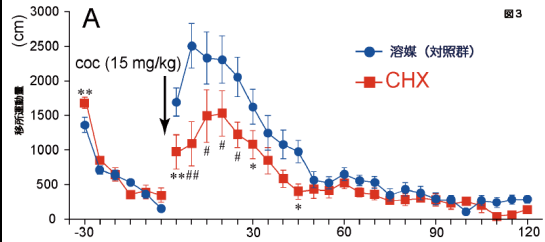
(1) CHX 慢性投与は意欲や道具学習獲得



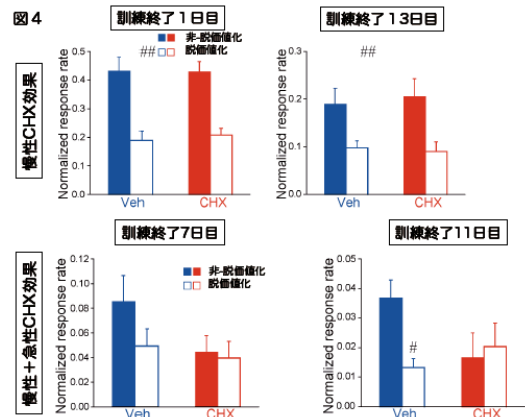
に影響を与えなかった(図1)。一方、強制水泳に対しては対照群で誘導される無動性を有意に緩和し、抗うつ薬的な効果を示した(図2)。一方、急性コカイン投与によって誘導される行動増強を抑制した(図3)。一方、急性CHX投与は脱価値化を阻害し、一過性に習慣化促進様の作用を示したが、この効果は慢性にCHXを前



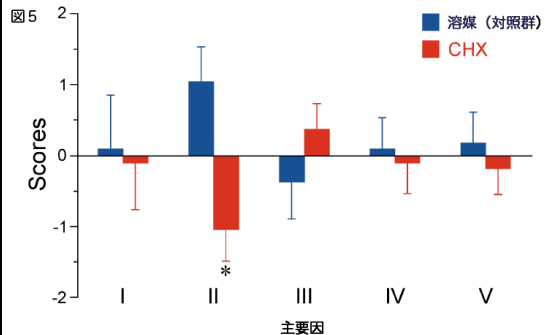
間の相関について主要因解析で検討したと



ころ、複数の指標間で相関関係の存在が確認され、特に一部の指標では個体差の減少



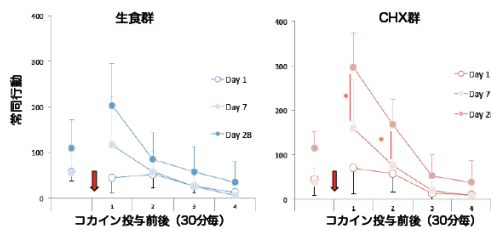
あるいは増大が慢性CHX投与の結果誘導されていることが確認された。特に対照群とCHX群の間で差を認めた要因IIには、多く



のドパミン関連性の指標(脱価値化テスト、空間運動量、強制水泳、コカイン誘導性運動量)が含まれていたことから、CHXは特にドパミン系の機能に影響を与えていると示唆された(図5)。以上より、慢性CHX投与は当初の予想と異なり、必ずしもうつ病様の表現系を模倣するものではないが、脳機能の中で特定の関連する機能群のバランスを変化させていると考えられた。これらの結果をまとめて論文として発表した。

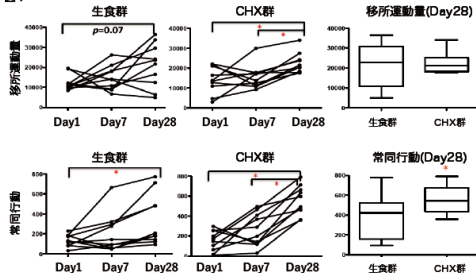
(2) CHX 投与はコカイン投与終了時には行動に影響を与えなかったが、投与終了3週間後に再度急性コカインをチャレンジし

図6



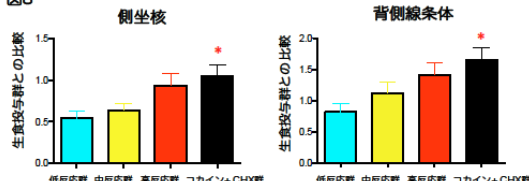
て逆耐性現象形成を評価したところ、CHX群で常同行動が有意に増強していることが確認された(図6)。一般に逆耐性現象の形成は個体差が大きく、10-20%の動物で形成が認められないが、CHX投与群では全個

図7



体で逆耐性の形成が確認され、個体差の消失が確認された(図7)。休薬期間後の逆耐性増強は特に依存様行動の促進指標と考えられることから、依存性薬物と酸化ストレス増強因子の同時負荷は、遅発性に依存形成を促進する可能性が示唆された。一般に、初回コカイン投与に大きな行動増強を示す個体は逆耐性を形成しにくく、反対に反応の小さな個体ほど強い逆耐性を形成すると言われ、この違いはDATの発現量に依存すると考えられている。そこで、コカイン初回投与時の行動とCHXのDAT発現量に対する影響の関係を調べる目的にて、糖鎖修飾の有無を指標として(糖鎖(-)型;細胞内貯留型、50kDa、糖鎖(+)型;膜表面発現型、80kDa)細胞膜表面に発現しているDATを区別できる抗体を用いてウエスタン法を行い、慢性コカイン+生食あるいはCHX投与3週後の側坐核及び背側線条体における機能的DAT量(80kDa/50kDaの比)を調べたところ、予想と異なりコカイン+CHX群の機能的DAT量は側坐核、背側線条体とも初期低反応群ではなく高反応群に酷似していることがわかった(図8)。

図8



上記をまとめると、コカインとCHXの同時投与の結果誘導される逆耐性行動の増強は、DATの変化に依存している可能性は低いと示唆された。現在コカイン以外の依存

性薬物に関する検討を追加し、論文投稿準備中である。

尚、連帯研究者であった井口博士は当時研究代表者研究室に所属するポストドクトラルフェローであったが、この一連の業績が評価され、福島大学生体情報伝達研究所の特任助教に就任した。

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2件)

①Iguchi Y, Kosugi S, Lin Z, Nishikawa H, Minabe Y, Toda S. Pre-stress performance in an instrumental training predicts post-stress behavioral alterations in chronically stressed rats. *Frontiers in Behave Neurosci*, 2015, 9:119. (査読有)
doi: 10.3389/fnbeh.2015.00119.

②Iguchi Y, Kosugi S, Nishikawa H, Lin Z, Minabe Y, Toda S. Repeated exposure of adult rats to transient oxidative stress induces various long-lasting alterations in cognitive and behavioral functions. *PloS One*, 9, e114024, 2014 (査読有)
doi: 10.1371/journal.pone.0114024.

[学会発表] (計5件)

① Shigenobu Toda, Lin Ziquao, Hiromi Nishikawa, Yoshio Iguchi, Bruce T Hope, and Yoshio Minabe. c-fos expression may be transiently involved in the transition from goal-directed action to habit in striatal medium spiny neurons while more ubiquitously expressed in striatal astrocytes probably representing goal-directed stage. 包括脳冬のシンポジウム、H27.12.17、一橋講堂(東京、文京区)

② Shigenobu Toda, Lin Ziquao, Hiromi Nishikawa, Yoshio Iguchi, Bruce T Hope, and Yoshio Minabe. Identification of the learning process and neuronal circuits for instrumental learning in rats International Symposium on Prediction and Decision Making, H27.10.30、東京大学(東京、文京区)

③ 戸田重誠「依存症の生物学的メカニズム」第17回感情・行動・認知(ABC)研究会、H27.10.24、新大阪ワシントンホテルプラザ(大阪市、大阪府)

④ 戸田重誠「酸化ストレスが個体差と精神刺激薬反応性にもたらす影響」平成26年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会、H26.10.3、パシフィコ横浜(神奈川、横浜市)

⑤ 戸田重誠「慢性酸化ストレス負荷がコカイン逆耐性現象に与える影響」第110回日本精神神経学会学術総会、H26.6.26、パシフィコ横浜(神奈川、横浜市)

〔図書〕（計 1 件）

戸田重誠「依存症の生物学的メカニズム」

分子精神医学、先端医学社（in press）

〔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

<http://psychiatry.w3.kanazawa-u.ac.jp>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

戸田 重誠 (TODA, Shigenobu)

金沢大学・附属病院・講師

研究者番号：00323006

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

井口 善生 (IGUCI, Yoshio)

福島大学・生体情報伝達研究所・

特任助教

研究者番号：20452097