



Title	抗うつ薬の、社会的ストレスによるうつ病モデルマウス形成への予防効果の解析
Author(s)	森本, 健揮
Citation	平成28年度学部学生による自主研究奨励事業研究成果報告書. 2017
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/60321
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

平成28年度学部学生による自主研究奨励事業研究成果報告書

ふりがな氏名	森本健揮	学部学科	3薬科学科	学年	3年
ふりがな共同研究者名	村山真人	学部学科	3薬学科	学年	3年
					年
アドバイザー教員氏名	関山敦生 笠原恵美子	所属	先制心身医薬学寄附講座		
研究課題名	抗うつ薬の、社会的ストレスによるうつ病モデルマウス形成への予防効果の解析				
研究成果の概要	研究目的、研究計画、研究方法、研究経過、研究成果等について記述すること。必要に応じて用紙を追加してもよい。				
<p>【目的】うつ病や自殺による我が国の経済的負担は3兆円にのぼり、社会問題になっている(1)。うつ病の治療反応率は約60%(2)で、うつ病による自殺率は10%(2)と、現代の治療を受けた場合でも発症者の予後は良好ではない。うつ病の最大の原因はストレス(2)だが、ストレッサーに暴露されても適切な支援下にあることでうつ病の発症を回避あるいは軽症化できることが広く知られている(3)。また、ストレス下やうつ状態にある者では血中サイトカイン濃度が変化し、ストレス応答の強度やうつ病発症リスク、うつ病重症度と高い相関を示すことが報告されている(4,5)。これらのことから、ストレスによるうつ病発症に対して抑制効果のある薬剤を発見し、さらに、サイトカインなどうつリスクのバイオマーカーとの相関性を明らかにすると、バイオマーカーで選ばれたうつ病発症ハイリスク群への投薬、さらに投薬後のバイオマーカーによる評価によって、うつ病の予防や発症後の軽症化に役立つのではないかと考えた。そこで、本研究では、ストレスによるうつ病のモデル動物の形成に対する薬剤の効果を、動物行動解析と血中サイトカイン濃度に注目して検討した。</p> <p>【計画】本研究では、うつ病モデル動物として広く用いられている社会的敗北ストレス（Social Defeat Stress: SDS (6)）を用い、同ストレスによるうつ様状態の形成に対する抗うつ薬の効果を、尾懸垂試験、ショ糖飲水試験、血中サイトカイン濃度によって評価することを計画した。薬剤は、うつ病や自殺の予防効果が報告されている炭酸リチウム(7)、三環系抗うつ薬、選択的セロトニン再取込阻害薬（Selective Serotonin Reuptake Inhibitors: SSRI）を選択した。</p> <p>【方法】被験群マウスとして雄性C57BL/6マウスを用いた。これらを、炭酸リチウム、三環系抗うつ薬（イミプラミン）、SSRI（セルトラリン）投与群および投与なしの4群（各n=10）に分け、さらにそれぞれの群をSDS負荷群（n=5）、コントロール群（n=5）に二分した。SDSは、被験群マウスと雄性Retire ICRマウスとを1日1回、9日間、同じケージに各1匹ずつ同居させることで負荷した。同居時間は、1日目を5分、その後1日ごとに30秒ずつ短縮、9日目に1分間とし、その間に被験群がICRマウスに攻撃された回数と時間とを目視で観察、記録した。各群の処遇を図1に示した。被験群マウスに、SDSに加えて慢性的なストレスを負荷するため、一つの飼育ケージを網状の仕切りで二区画に分け、一方の区画にICRマウ</p>					

スを一匹飼育し、片側に被験群マウスを一匹入れ、SDS 時間以外は両者を隣接する区画で飼育した。薬剤は SDS 開始日より連日経口にて、以下の投与量を投与した（炭酸リチウム 0.25mg/匹/日、イミプラミン 0.6mg/匹/日、セルトラリン 0.1mg/匹/日、被験群マウスの平均体重 22.7 g）。

SDS 終了（実験開始 9 日目）の翌日（同 10 日目、図中 Day 9）に 10 分間の尾懸垂試験を施行、尾懸垂試験後は 24 時間のショ糖飲水試験を行い、ショ糖飲水試験後にマウスを屠殺、腹部大静脈より採血し、血漿中のサイトカイン（IL-6, TNF- α , G-CSF）濃度を ELISA 法により測定した。比較検定は student's-T テスト（マイクロソフトエクセルに添付の関数）で行った。全ての実験は大阪大学動物実験規程に基づき、実験動物の苦痛に十分注意して行った。

【結果】

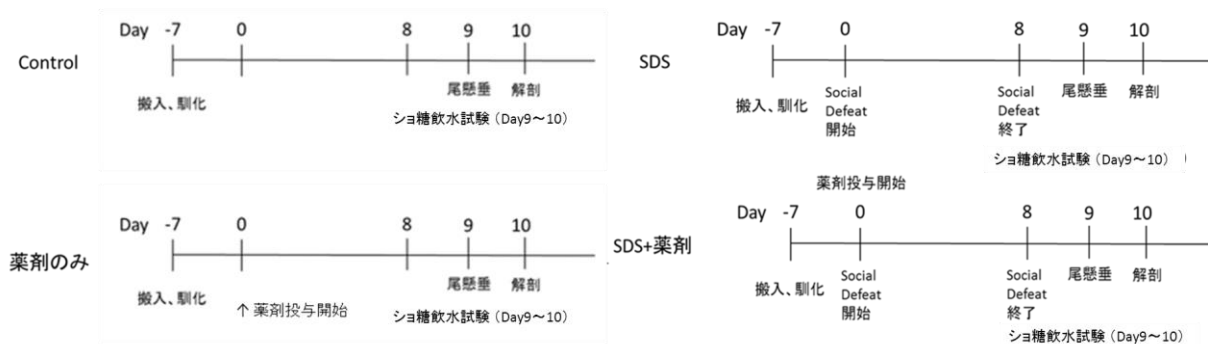


図 1. 社会的敗北ストレス(Social-Defeat Stress)の負荷と各群の処遇

SDS 後の、尾懸垂試験（図 2 A）、ショ糖飲水試験（図 2 B）、血中サイトカイン測定（図 2 C）を以下図 2 に示す。SDS 負荷群は、SDS を負荷しなかった群に比して、尾懸垂試験で試験開始後 4 分までの無動時間が増加（図 2 A、* ; $p < 0.01$ ）、ショ糖飲水試験では差を認めず（図 2B）、血中インターロイキン 6（interleukin: IL-6）濃度が上昇していた（図 2 C、* : $p < 0.05$ ）。この結果から、尾懸垂試験における開始後 4 分までの無動時間と血中 IL-6 濃度を以後の実験では比較検討することとした。

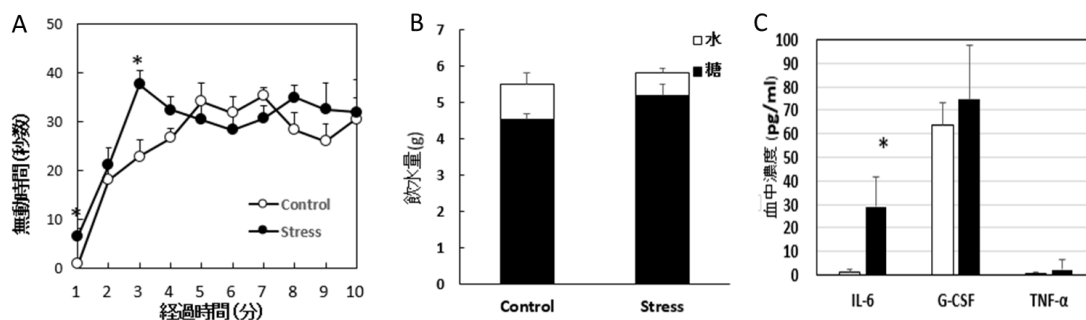


図 2. 社会的敗北ストレス(Social-Defeat Stress)による行動および血中サイトカイン濃度変化

薬剤投与による、尾懸垂試験における無動時間への効果を図 3 に示す。薬剤非投与群（一）では無動時間は増大し（* ; $p < 0.05$ ）、セルトラリン投与群では SDS 負荷セルトラリン非投与群に比して短縮しており（# ; $p < 0.05$ ）、SDS の効果が打ち消されていた。

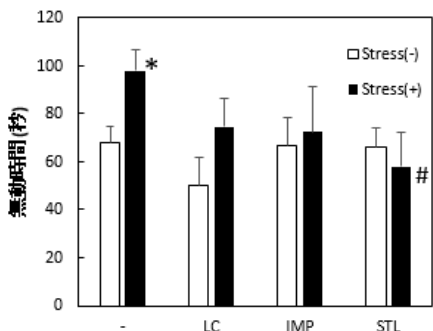


図 3.尾懸垂試験無動時間に対する薬剤の効果 (LC:炭酸リチウム、IMP : イミプラミン、STL : セルトラリン)

群	総飲水量(g)	ショ糖水飲水量(g)	総飲水量に占めるショ糖水の割合(%)
Control	5.519±0.441	4.522±0.168	81.95±3.609
LC	4.152±0.154	3.668±0.401	88.34±9.176
IMP	4.103±0.213	2.980±0.4550	72.64±8.627
STL	3.976±0.107	2.382±0.231	59.91±6.669
Stress	5.8312±0.421	5.187±0.335	88.96±1.507
LC+Stress	4.588±0.261	4.108±0.264	89.54±0.838
IMP+Stress	5.06±0.374	4.4825±0.265	88.76±1.474
STL+Stress	4.816±0.188	3.820±0.354	79.32±8.058

表 1. ショ糖飲水試験でのショ糖飲水傾向に対する薬剤の効果 (LC:炭酸リチウム、IMP : イミプラミン、STL : セルトラリン)

ショ糖飲水試験でのショ糖飲水傾向に対する薬剤の効果を表 1 に示した。イミプラミン、セルトラリン投与群ではショ糖水飲水量 (* ; $p < 0.05$) は低下したが、総飲水量に占めるショ糖水の割合は低下していなかった。SDS を負荷してもショ糖飲水量の低下は認めなかった。総飲水量に占めるショ糖水の割合に注目し、薬剤非投与群と同 SDS 負荷群の比率と、薬剤投与群と薬剤 + SDS 群の比率を比較すると、セルトラリン投与群のみ、総飲水量に占めるショ糖水の割合が、薬剤非投与群に比し、増大傾向を示していた ($p < 0.1$)。セルトラリン投与群においては、ストレスを負荷した際のショ糖水嗜癖が上昇することが明らかになった。

サイトカイン、血中 IL-6 測定結果を図 4 に示した。血中 IL6 濃度は SDS 後は上昇した。SDS に加え、炭酸リチウムを投与した群では測定限界以下になっていた。同じくイミプラミン、セルトラリン投与群では変動は認めなかった。

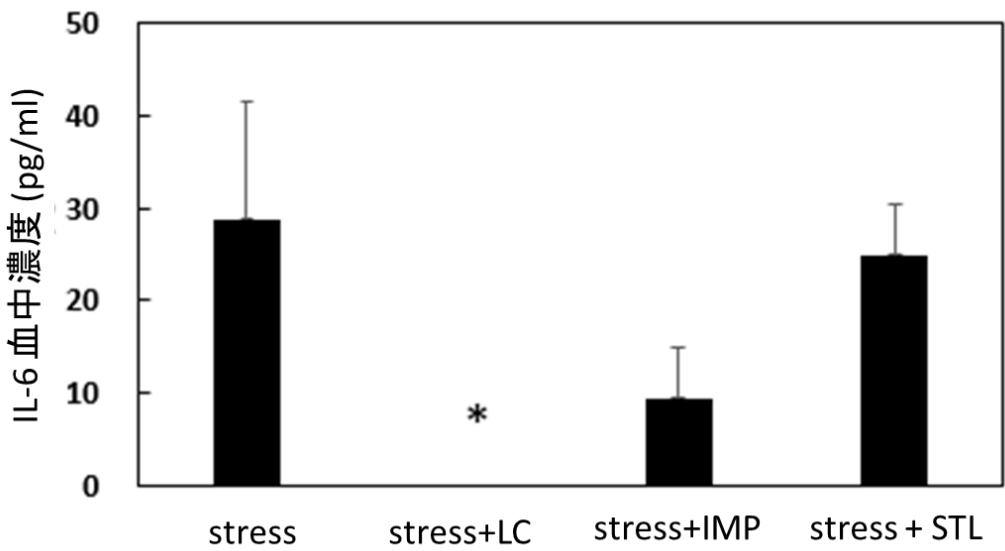


図 4 社会的敗北ストレス (SDS) 後の血中 IL-6 濃度に対する薬剤 (LC:炭酸リチウム、IMP:イミプラミン、STL:セルトラリン) の影響

【研究成果に対する考察】

本研究では、SDS により、尾懸垂試験ならびに IL-6 血中濃度に差が生じていた。しかし、アンヘド

ニアの指標とされるショ糖飲水試験では差は生じておらず、アンヘドニアが重症うつの重要な指標であること、IL6がストレスの指標として有用であることを考えると、軽症のうつまたは発症直前の高ストレス状態に類似しているモデルである可能性が考えられた。尾懸垂試験において、セルトラリンの投与が、無動時間延長を阻害したことからは、セルトラリンが、ストレスによるうつもしくはうつ高リスク状態を回避するのに有効である可能性が示唆されたと考えられた。セルトラリンはSDS負荷群のショ糖嗜癖を有意に上昇させており、高ストレス時のショ糖嗜癖を上昇させる薬理効果があるのかもしれない。SSRIの耐糖能低下リスクについては添付文書に記載されるほど広く知られているが、ショ糖嗜癖上昇が関与している可能性がある。血中バイオマーカーであるIL6の投薬による低下が認められなかったことから、早期うつあるいは発症直前期のアセスメントには、他のマーカーとの併用が必要となる可能性が示唆された。

【参考文献】

1. 平成 22 年度厚生労働省障害者福祉総合推進事業補助金「精神疾患の社会的コストの推計」
2. Depression and Suicide Risk (2014) American Association of Suicidology
3. Can stress cause depression? (2005) World J Biol Psychiatry. Suppl 2:5-22.
4. A stress-induced, superoxide-mediated caspase-1 activation pathway causes plasma IL-18 upregulation. (2005) Immunity. 22(6):669-77.
5. Biological load indicator and method of measuring biological load (WO 2007094472 A1)
6. A standardized protocol for repeated social defeat stress in mice (2011)
Nat Protoc. 6(8): 1183–1191.
7. Lithium in the prevention of suicide in mood disorders: updated systematic review and meta-analysis (2013) BMJ 2013; 346

(以下余白)