

ス負荷ラットの各アレイのバックグラウンドを補正した結果、発現に差の見える遺伝子が6種類見つかった。老齡ラット群で顕著な発現の亢進をみた遺伝子として、Rat nuclear oncoprotein p53 (p53) 老齡/成熟 = 5.24・Rat P-glycoprotein (PGY2) 老齡/成熟 = 2.02 がみられた。老齡ラット群で顕著な発現の低下をみた遺伝子として、Rat calcium-binding protein (CABP2) 成熟/老齡 = 1.61・Rattus norvegicus stress activated protein kinase beta isoform (JNK3) 成熟/老齡 = 1.86・Rattus norvegicus amphiphysin (amph1) 成熟/老齡 = 3.53・G1/S-specific cyclin E (CCNE) 成熟/老齡 = 4.51 がみられた。

アレイ法にて顕著な発現に違いのみられた上記6個の遺伝子に関して、real-time quantitative PCR法による詳細な発現の解析を行った。その結果、p53発現に関しては老齡ストレス群: 90.2 ± 5.3%・成熟期ストレス群: 100.0 ± 1.9%と、アレイによる検討とは異なり有意な発現の変化はみられなかった。PGY2の発現に関しても同様の検討を行った結果、老齡ストレス群: 99.3 ± 5.9%・成熟期ストレス群: 100.0 ± 3.4%と、アレイによる検討とは異なり有意な発現の変化はみられなかった。CABP2の発現に関しても同様の検討を行った結果、老齡ストレス群: 105.5 ± 7.3%・成熟期ストレス群: 100.0 ± 2.6%と、アレイによる検討とは異なり有意な発現の変化はみられなかった。JNK3の発現に関しても同様の検討を行った結果、老齡ストレス群: 79.5 ± 3.7%・成熟期ストレス群: 100.0 ± 8.4%と、アレイによる検討と同じく老齡ラット群で有意な発現の減少をみた。しかしながらJNK3の加齢による非ストレス負荷群を対象とした発現の検討から、ストレス負荷によってJNK3発現に有意な変動のないことが明らかとなった。CCNEの発現に関しても同様の検討を行った結果、老齡ストレス群: 98.7 ± 6.6%・成熟期ストレス群: 100.0 ± 6.4%と、アレイによる検討とは異なり有意な発現の変化はみられなかった。Amph1の発現に関しても同様の検討を行った結果、老齡ストレス群: 88.0 ± 1.4%・成熟期ストレス群: 100.0 ± 3.4%と、アレイによる検討と同じく老齡ラット群で有意な発現の減少をみた。老齡および成熟期ストレス負荷群で遺伝子発現に有意な差がみられたため、この変化が加齢による発現の変化であるか否かを解明するために、老齡ストレス負荷群・老齡対照群・成熟期ストレス負荷群・成熟期対照群の4群間で発現の解析を行った。その結果各群でのamph1発現は、成熟期ストレス負荷群: 100.0 ± 3.7%・成熟期対照群: 79.0 ± 6.0%・老齡対照群: 94.2 ± 8.1%・

老齡ストレス負荷群: 84.2 ± 1.4%であった。これらの結果から、amph1発現は加齢によって影響を受けないことが明らかとなり、ストレス負荷によって有意に老齡ラット海馬でamph1の発現の低下することが解明された。

D. 考察

昨年度の本分担研究者らの老齡ラットを対象とした、慢性多様性ストレスによる脳内アポトーシス関連遺伝子 bcl-2, bax 発現の検討では、これらの遺伝子の発現に有意な変化がみられなかった。臨床脳画像研究では、高齢者うつ病での海馬の萎縮など、アポトーシスを介した神経細胞の変性の関与が示唆されている。しかしながら昨年度の研究結果からは、少なくとも老齡ラットでのストレスによる脳機能変化に、bcl-2 発現の減弱や bax 発現の亢進によるアポトーシスが必ずしも関与するわけではない可能性が示唆された。

しかしながら bcl-2 や bax を介さないアポトーシスのメカニズムも報告されており、高齢者に特有のストレス反応性の減弱という機序を検討する目的から考えると、多種類の細胞障害に関連する遺伝子の発現解析が必要である。このような課題を解明する目的で、老齡ラットおよび成熟期ラットに連続性多様性ストレスを負荷し、海馬での老齡ラットに特異的な遺伝子発現の変化を cDNA アレイ法および real-time quantitative PCR 法にて解析した。その結果、中枢神経系前シナプス部でエンドサイトーシスに密接に関与している amphiphysin I 遺伝子の発現が、老齡ラットのストレス負荷時に有意に減弱していることが得られた。この amphiphysin I 遺伝子はシナプス小胞の clathrin 被膜形成に dynamin I と共に、密接に関与することが知られている。従って今回の研究結果から得られたストレス負荷に伴う amphiphysin I の発現低下は、シナプス部でのエンドサイトーシスの低下を引き起こし、前シナプス部での神経伝達物質合成の低下を招くと考えられる。ごく最近報告された amphiphysin I ノックアウトマウスの行動解析結果から、amphiphysin I のノックアウトによって顕著な記憶力の低下がみられている。同時に amphiphysin I 発現の低下が引き起こされると、前シナプス部での神経伝達物質の再取り込みも減少することが予想され、高齢者に特異的なうつ病の発症機序となる可能性が示唆される。このような所見を参考に今回の研究結果を考えると、高齢者で特異的にみられる海馬でのストレスによる amphiphysin I 発現の低下が、記憶力障害を主要症状とする老年期うつ病の発症機序と

密接に関与している可能性を示唆する極めて興味ある結果と思われる。

E. 結論

加齢のおよぼす脳機能のストレス脆弱性亢進に関与するメカニズムの解明を目的に、老齢および成熟期ラットに慢性多様性ストレス負荷を行い、老齢ラット海馬で特異的に発現の異なる遺伝子を cDNA アレイ法・real-time quantitative PCR 法を用いて検討した。その結果、海馬での amphiphysin I 遺伝子の発現の低下が老齢群に特異的で、この変化は高齢者うつ病でみられる記憶力障害の一因となっている可能性もあると考えられた。

F. 健康危険情報

該当事項なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Takahashi J, Tanaka K, Morinobu S, Fujimaki K, Li S-T, Kato K, Ohkawa M, Yamawaki S, Kato N: Influence of restraint stress on the expression and the serine/threonine phosphatase activity of calcineurin in the rat brain. *Synapse* 40: 130-136, 2001.

2) Yamashita H, Fujikawa T, Yanai I, Morinobu S, Yamawaki S: Clinical features and treatment response of patients with major depression and silent cerebral infarction. *Neuropsychobiol.*, 44: 176-182, 2001.

3) Fukumoto T, Morinobu S, Okamoto Y, Kagaya A, Yamawaki S.: Chronic lithium treatment increases the expression of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in the rat brain. *Psychopharmacol* 158: 100-106, 2001.

4) Hisaoka K, Nishida A, Koda T, Miyata M, Zensho H, Morinobu S, Ohta M, Yamawaki S: Antidepressant drug treatments induce glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) synthesis and release in rat C6 glioblastoma cells. *J Neurochem* 79: 25-34, 2001.

5) Yamashita H, Fujikawa T, Yanai I, Morinobu S, Yamawaki S: Cognitive dysfunction in recovered depressive patients with silent cerebral infarction. *Neuropsychobiol.*, 45: 12-18, 2002.

2. 学会発表

1) 辻 誠一、森信 繁、菅原幸子、末永貴美、川野樹一朗、加賀谷有行、山脇成人：ラット脳内 bcl-2 発現に対するストレスの影響。第 23 回日本生物学的精神医学会 (4. 11-13, 2001 長崎)。

2) Yamawaki S, Fujikawa T. Vascular depression as a treating resistant depression. CINP Regional Meeting. 2001. 10.2-5. Hiroshima, Japan.

3) Tsuji S, Suenaga T, Kawano K, Sawada T, Kagaya A, Morinobu S, Yamawaki S: Searching for the genes in rat hippocampus regulating stress reactivity. 31th Annual Meeting of Japanese Society of Neuropsychopharmacology. 2001. 10. 2-5. Hiroshima, Japan.

H. 知的財産権の出願・登録状況
該当事項なし。

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kazunori Imaizumi, Ko Miyoshi, Taichi Katayama, Takunari Yoneda, Manabu Tanigushi, Takashi Kudo, Msayasu Tohyama	The unfolded protein response and Alzheimer's disease	Biochimica et Biophysica Acta	1536	85-96	2001
工藤喬、武田雅俊	神経系疾患 Alzheimer 病	日本臨床 本邦臨床 統計集	59 増刊号 (8)	504- 510	2001
Takuya Ishizuka, Hajime Baba, Shinji Higashi and Heii Arai	Circulating natural killer cell activity and cytokine production and Alzheimer's disease.	Alzheimer's Reports	4(2)	81-85	2001
Takuya Ishizuka, Shinji Higashi, Hajime Baba, Kanehisa Imai, Ko Eto and Heii Arai	The concentration of serum Dehydroepiandrosterone, Dehydroepiandrosterone-sulfate and cortisol in Japanese sporadic Alzheimer's disease.	Alzheimer's Reports	4(6)	205- 208	2001
Heii Arai, Hiroe Tsubaki, Yoshio Mitsuyama, Naoki Fujimoto, Yasuo Urata and Akira Homma.	Early onset Alzheimer's type dementia more rapidly deteriorates than late onset type: A follow-up study on MMSE scores in Japanese patients.	PSYCHOG ERIATRICS	1	303- 308	2001
Hajime Baba, Tohru Ohnuma, Nobuto Shibata, Tadashi Takahashi and Heii Arai	Quantitative analysis of Presenilin-1 mRNA expression in sporadic Alzheimer's disease brain.	PSYCHOG ERIATRICS	1	218- 221	2001
Makoto Soma, Toshio Tamaoki, Hiroo Kawano, Sadahiro Ito, Mihoki Sakamoto, Yoshiie Okada, Yukio Ozaki, Shigenobu Kanba, Yoshiki Hamada,	Mice Kacking Serum Amyloid Component Do Not Necessarily Develop Severe Autoimmune Disease	Biochemical and Biophysical Research Communications	286	200- 205	2001

TokuhiroIshihra and Shuichiro Maeda					
Eiji Shuzuki M.D., Ph.D., Masahiro Asai M.D., Ph.D.	Elevated plasm nitrate levels in depressive states	Journal of Affective Disorders	63	221-224	2001
工藤耕太郎 神庭重信	ストレスと神経細胞死 精神疾患に認められる海馬萎縮のメカニズムの解明	医学のあゆみ	197 (4)	271-273	2001
工藤耕太郎	情動,不安と海馬	臨床精神医学	30 (12)	アークメ ディア	2001
H,Yamashita T. Fujikawa, I.Yanai, S.Morinobu S,Yamawaki	Clinical Features and Treatment Response of Patients with Major Depression and Silent Cerebral Infarction	Neropsychology	44	176-182	2001
H.Yamashita T.Fujikawa, I.Yanai, S.Morinobu S,Yamawaki	Cognitive Dysfunction in Recovered Depressive Patients with Silent Cerebral Infarction	Neropsychology	45	12-18	2002

20010190

以降のページは雑誌/図書等に掲載された論文となりますので
「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。