

厚生労働科学研究費補助金

長寿科学総合研究事業

(H17-長寿-004)

モノアミン系の加齢変化とうつ病の
解明・予防に関する研究

平成18年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 城川哲也

平成19(2007)年3月

目次

I. 総括研究報告書

- モノアミン系の加齢変化とうつ病の解明・予防
に関する研究 1
城川哲也

II. 分担研究報告書

1. 加齢にともなうモノアミン系の相互作用に関する
電気生理学・形態学的評価 13
城川哲也
2. 加齢にともなうモノアミン系の相互作用に関連する
遺伝子解析 16
磯部健一
3. ヒト加齢脳におけるモノアミン関連遺伝子の発現
分布と相互作用の解析 21
小阪憲司
4. 高齢者および血管障害後のうつ病・認知症とモノアミンと
の関連の解析 26
赤津裕康

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 34

IV. 研究成果の別刷 35

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）
総括研究報告書

モノアミン系の加齢変化とうつ病の解明・予防に関する研究

主任研究者 城川哲也 日本福祉大学情報社会科学部 教授

研究要旨：不安やうつ状態は自殺を引き起こす大きな要因であるが、とりわけ中高年の自殺の増加は深刻な社会問題となっている。本研究は、加齢に伴ううつ病を理解するキーワードとして、ノルアドレナリン(NA)系およびセロトニン(5-HT)系の前頭葉での相互作用に着目して行われた。加齢ラットを用いた電気生理学的解析およびマウスを用いた5-HT代謝解析に加えて、脳卒中後うつ病(post-stroke depression: PSD)に着目し、PSDを認めた死後脳の生化学的分析によってモノアミン系の相互作用の解析を試みた。その結果、1)モノアミン神経終末の相互作用が17月齢を中心に見られ、2)特異的神経毒により変性した5-HT神経終末に対して、抗うつ薬 maprotiline が5-HT終末の再生を促進することが確認されたこと、3)マウスのうつモデルを用いて、脳内5-HT代謝に関与するトリプトファンヒドロキシラーゼ(TPH-2)およびインドールアミン酸素添加酵素(IDO)の活性について生化学的に検討を行ったところ、うつモデル群では対照と比較して、前頭葉、海馬、扁桃体において5-HTとキヌレニンの濃度が上昇していたことが明らかになった。

A. 研究目的
脳内モノアミン系の相互作用の解析は、モノアミン系が関与するとされている気分障害やうつ病の機序を解明し、その予防法の開発を目指す上で極めて有効であると思われる。特に、加齢に伴うモ

ノアミン系の異常を解明することは、高齢者のうつ病対策のヒントとなることが期待される。しかし一方で、動物実験による詳細な解析だけではうつの本態を理解することは困難であることから、うつ病患者の脳サンプルの解析も必須

である。こうした観点から研究を開始し、加齢ラットの前頭葉におけるモノアミン系の相互作用を示唆するデータが得られ、マウスのうつモデルからは、5-HT代謝酵素の動態が得られた。さらに、BDNFがモノアミン系の相互作用に関与している可能性を検討するために、うつ病患者脳の前頭葉のBDNF関連遺伝子の発現とモノアミン系の病変との関連について解析を開始した。また、脳卒中後うつ病 (post-stroke depression: PSD) に着目し、PSDを認めた死後脳の前頭葉の生化学的分析によってモノアミン系の相互作用の解析を行った。

B. 研究方法

(1) 加齢ラットの解析

加齢ラット (3 ~ 24 月齢) の青斑核 (LC) および背側縫線核 (RD) から単一ニューロン活動を記録し、前頭葉における共通の投射部位での終末の分布と発芽の程度を電気生理学的に調べた。また、NAおよび5-HT神経終末を免疫組織化学的に染色し、電気生理学データと比較した。

(2) マウスうつモデルの解析

母親からの分離によるマウスのうつモデルを用いて、前頭葉、海馬、扁桃体における5-HT代謝に関与する酵素 TPH-2, IDO の活性について生化学的に検討を行った。

(3) ブレインバンクサンプルの解析
ブレインバンクサンプルを対象に fragment length PCR 法を用いて BDNF 遺伝子多型解析を行った。

(4) PSD症例のあった剖検症例において脳実質・髄液・血液サンプルを用いて NA, 5-HT, NA transporter, 5-HT transporter を定量し、NA系および5-HT系の相互作用について解析を行った。

(倫理面への配慮)

動物実験はそれぞれの施設の実験動物委員会の倫理規定に従った。ヒトサンプルは、病理解剖時に遺伝子解析も含めての研究利用に供される旨明記した書面にて遺族より承諾を得た。その後の検体はすべて匿名化され、全ての情報は個人情報管理室にて厳重に管理された。またヒトサンプルを用いての研究は全て福祉村病院倫理委員会の承認を得て行われている。ヘルシンキ宣言、遺伝学的検

査に関するガイドライン, ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針および疫学研究に関する倫理指針に準拠した。

C. 研究結果

(1) 前頭葉の投射部位における発芽が17月齢を中心にいずれの終末においても増加し, LCニューロンとRDニューロンの終末間での相互作用が示唆された。5-HT特異的神経毒の投与によって変性した5-HT神経終末に対して, 抗うつ薬 maprotiline が5-HT終末の再生を促進することが確認された。一方, 変性したNA神経終末に対して maprotiline は再生を促進しなかった (城川)。

(2) 母親からの分離によるうつモデル群では, 対照と比較して, 前頭葉, 海馬, 扁桃体のいずれの部位においても, 5-HTとキヌレニンの濃度が上昇していた。後者は炎症性ストレスによってトリプトファンから合成されることから, 同じくトリプトファンから合成される5-HTの合成が炎症性ストレスの影響を受けることが示唆された (磯部)。

(3) BDNF遺伝子多型解析から, アルツ

ハイマー病およびレビー小体病患者の脳においては有意な相関性は見られなかった。今後, うつ病患者の脳サンプルにおけるBDNF関連遺伝子発現を調べ, モノアミン系の病変との関連性についての解析を進めていく (小阪)。

(4) 剖検脳のデータベース化が進行中である。脳血管障害のあった患者の臨床像におけるうつ状態の把握を進め, 症例の抽出を行っている (赤津)。

D. 考察

(1) 前頭葉におけるNAおよび5-HT神経終末の発芽がいずれも17月齢を中心に増加したことから, 加齢に伴うモノアミン終末間での相互作用が示唆された。5-HT神経終末の再生が, 抗うつ薬であるNA取り込み阻害薬 maprotiline の投与によって促進されたことから, うつ病の回復にNA系から5-HT系への働きかけが重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

(2) うつモデル群において THP-2 あるいはIDOが活性化され, 5-HTのみならずキヌレニン濃度が上昇したことは, うつ発症あるいは神経細胞死に何らかの

関与が考えられる。THP-2, IDO 遺伝子発現をin situ で検索する予定である。今後実験条件をさらに検討することでうつ発症に関与するこれらの酵素の役割が明らかにし,その機序を解明することがうつ病の予防につながる事が期待される。

(3)我々はこれまで,ラット前頭葉におけるLC-NA終末の維持と発芽が脳内BDNFの影響下にあることを明らかにしてきた (Matsunaga et al.2004, Matsunaga et al. 2006, Nakai et al. 2006)。また5-HT終末もBDNFによって顕著な再生を示すことが報告されている。一方,抗うつ薬がBDNFの脳内動態に影響を及ぼすことが報告されていることから,抗うつ薬がBDNFを介してモノアミン系に作用している可能性がある。こうした理由から,うつ病患者脳のBDNF関連遺伝子の発現とモノアミン系の病変との関連について解析を行う意義がある。

(4) PSDを認めた死後脳の生化学的解析によるモノアミン系の相互作用の解析について,現時点では考察可能な結果を得ていないが,今後症例の抽出が終了すれば, PSD,加齢とモノアミン系の関

連性に一定の回答を出す事が可能になると考えている。

E. 結論

加齢に伴うモノアミン神経終末の発芽が17月齢を中心に見られ,抗うつ薬maprotiline が5-HT終末の発芽を促進することが確認された。これらの結果は,加齢に伴ううつの機序としてモノアミン系の相互作用が関与する可能性を示唆した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

Nakai, S., Matsunaga, W., Ishida, Y., Isobe, K. and Shirokawa, T. Effects of BDNF infusion on the axon terminals of locus coeruleus neurons of aging rats. *Neuroscience Research*, 54: 213-219, 2006.

Nakai, S., Matsunaga, W., Isobe, K. and Shirokawa, T. Age-dependent

interactive changes in serotonergic and noradrenergic cortical axon terminals in F344 rats. *Neuroscience Research*, 54: 220-229, 2006.

Matsunaga, W., Isobe, K. and Shirokawa, T. Involvement of neurotrophic factors in aging of noradrenergic innervations in hippocampus and frontal cortex. *Neuroscience Research*, 54: 313-318, 2006.

Ishida Y, Okawa Y, Ito S, Shirokawa T and Isobe K. Age-dependent changes in dopaminergic projections from the substantia nigra pars compacta to the neostriatum. *Neuroscience Letters*, in press.

Ito S, Kimura K, Haneda M, Ishida Y, Sawada M, Isobe KI. Induction of Matrix metalloproteinases (MMP3, MMP12 and MMP13) expression in the microglia by amyloid- β stimulation via the PI3K/Akt pathways. *Exp.*

Gerontology, in press.

Ito S, Sawada M, Haneda M, Ishida Y, Isobe KI. Amyloid-beta peptides induce several chemokine mRNA expressions in the primary microglia and Ra2 cell line via the PI3K/Akt and/or ERK pathway. *Neurosci Res.* 2006 Nov;56(3):294-9.

Kato M, Takeda K, Kawamoto Y, Tsuzuki T, Kato Y, Ohno T, Hossain K, Iftakhar-E-Khuda I, Ohgami N, Isobe K, Takahashi M, Nakashima I. Novel Hairless RET-Transgenic Mouse Line with Melanocytic Nevi and Anagen Hair Follicles. *J Invest Dermatol.* 2006, 126(11):2547-50.

Nakai S, Matsunaga W, Isobe K, Shirokawa T. Age-dependent interactive changes in serotonergic and noradrenergic cortical axon terminals in F344 rats. *Neurosci Res.* 2006.54(3):220-229.

Nakai S, Matsunaga W, Ishida Y, Isobe K, Shirokawa T. Effects of BDNF infusion on the axon terminals of locus coeruleus neurons of aging rats. *Neurosci Res.* 2006;54(3):213-9.

Matsunaga W, Isobe K, Shirokawa T. Involvement of neurotrophic factors in aging of noradrenergic innervations in hippocampus and frontal cortex. *Neurosci Res.* 2006 54(4):313-8.

Takeda K, Kawamoto Y, Okuno Y, Kato M, Takahashi M, Suzuki H, Isobe K, Nakashima I. A PKC-mediated backup mechanism of the MXXCW motif-linked switch for initiating tyrosine kinase activities. *FEBS Lett.* 2006. 6; 580(3): 839-43.

Isobe K, Ito S, Haneda M, Ishida Y. Cellular and systemic defense system against age-promoting stimuli. *Nagoya J Med Sci.* 2006;68(1-2):9-18.

磯部健一、羽根田正隆、石田佳幸、伊藤佐知子。B細胞の分化；形質細胞への分化とストレス応答。Annual Review 免疫 2006

Isobe K., Ito S, Haneda M, Ishida Y. Cellular and systemic defense system against age-promoting stimuli. *Nagoya J. Med.* 68: 9-18, 2006.

Fujishiro H, Umegaki H, Isojima D, Akatsu H, Iguchi A, Kosaka K. Depletion of cholinergic neurons in the nucleus of the medial septum and the vertical limb of the diagonal band in dementia with Lewy bodies. *Acta Neuropathol.* 111: 109-114, 2006.

Mitsuda N, Yamagata HD, Zhong W, Aoto M, Akatsu H, Uekawa N, Kamino K, Taguchi K, Yamamoto T, Maruyama M, Kosaka K, Takeda M, Kondo I, Miki T. A novel alternative splice variant of nicastrin and its implication in Alzheimer disease. *Life Sci.* in press.

Fujishiro H, Umegaki H, Isojima D, Akatsu H, Iguchi A, Kosaka K. Depletion of cholinergic neurons in the nucleus of the medial septum and the vertical limb of the diagonal band in dementia with Lewy bodies. *Acta Neuropathol (Berl)*. 2006;111(2):109-14.

Kimura R, Kamino K, Yamamoto M, Kida T, Akatsu H, Uema T, Kobayashi T, Hattori H, Nuripa A, Nessa BN, Kazui H, Ikejiri Y, Tanaka T, Tanii H, Kudo T, Yoneda H, Yamagata H, Miki T, Takeda M. Albumin gene encoding free fatty acid and beta-amyloid transporter is genetically associated with Alzheimer disease. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2006;60 Suppl 1:S34-9.

Akatsu H, Yamagata HD, Kawamata J, Kamino K, Takeda M, Yamamoto T, Miki T, Tooyama I, Shimohama S, Kosaka K. Variations in the BDNF Gene in

Autopsy-Confirmed Alzheimer's Disease and Dementia with Lewy Bodies in Japan. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2006;22(3):216-22.

Wollmer, M.A., Kapaki, E., Hersberger, M., Muntwyler, J., Brunner, F., Tsolaki, M., Akatsu, H., Kosaka, K., Michikawa, M., Molyva, D., Paraskevas, G.P., Lutjohann, D., von Eckardstein, A., Hock, C., Nitsch, R.M., Papassotiropoulos, A.

Ethnicity-dependent genetic association of ABCA2 with sporadic Alzheimer's disease. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2006;141(5):534-6.

Heese K, Akatsu H. Alzheimer's disease. an interactive perspective. *Curr Alzheimer Res*. 2006;3(2):109-21.

Isojima D, Togo T, Kosaka K, Fujishiro H, Akatsu H, Katsuse O, Iritani S, Matsumoto T, Hirayasu Y.

- Vascular complications in dementia with Lewy bodies: a postmortem study. *Neuropathology*. 2006;26(4):293-7.
- Mitsuda N, Yamagata HD, Zhong W, Aoto M, Akatsu H, Uekawa N, Kamino K, Taguchi K, Yamamoto T, Maruyama M, Kosaka K, Takeda M, Kondo I, Miki T. A novel alternative splice variant of nicastrin and its implication in Alzheimer disease. *Life Sci*. 2006;78(21):2444-8.
- Satoh K, Hata M, Takahara S, Tsuzaki H, Yokota H, Akatsu H, Yamamoto T, Kosaka K, Yamada T. A novel membrane protein, encoded by the gene covering KIAA0233, is transcriptionally induced in senile plaque-associated astrocytes. *Brain Res*. 2006
- Waragai M, Wei J, Fujita M, Nakai M, Ho GJ, Masliah E, Akatsu H, Yamada T, Hashimoto M. Increased level of DJ-1 in the cerebrospinal fluids of sporadic Parkinson's disease. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006 7;345(3):967-72.
- Kimura R, Kamino K, Yamamoto M, Nuripa A, Kida T, Kazui H, Hashimoto R, Tanaka T, Kudo T, Yamagata H, Tabara Y, Miki T, Akatsu H, Kosaka K, Funakoshi E, Nishitomi K, Sakaguchi G, Kato A, Hattori H, Uema T, Takeda M. The DYRK1A gene, encoded in chromosome 21 Down syndrome critical region, bridges between β -amyloid production and tau phosphorylation in Alzheimer disease. *Hum Mol Genet*. 2006 Nov 29
- Yokota T, Mishra M, Akatsu H, Tani Y, Miyauchi T, Yamamoto T, Kosaka K, Nagai Y, Sawada T, Heese K. Brain site-specific gene expression analysis in Alzheimer's disease patients. *Eur J Clin Invest*. 2006;36(11):820-30.
- Makino S, Kaji R, Ando S, Tomizawa M, Yasuno K, Goto S, Matsumoto S, Tabuena

MD, Maranon E, Dantes M, Lee LV,
Ogasawara K, Tooyama I, Akatsu H,
Nishimura M, Tamiya G.

Reduced Neuron-Specific Expression
of the TAF1 Gene Is Associated with
X-Linked Dystonia-Parkinsonism.

Am J Hum Genet. 2007 ; 80(3): 393-406.

Akatsu H, Ishiguro M, Ogawa N,
Kanesaka T, Okada N, Yamamoto T,
Campbell W, and Okada H

Plasma levels of unactivated thrombin
activatable fibrinolysis inhibitor
(TAFI) are down-regulated in young
adult women - Analysis of a normal
Japanese population.

Micobiol and Immuno, 2007 in press

(3) 学会発表

城川哲也「脳のエイジングと可塑性」

第47回日本人間ドック学会学術大会
シンポジウム、2006年9月14～
15日、沖縄。

伊藤佐知子、羽根田正隆、石田佳幸、磯
部健一 A-betaによるミクログリアか

らのmatrix metalloproteinases(MMPs)
の産生第29回日本基礎老化学会
2006. 6.16

ISHIDA Yoshiyuki, MIZUNO Daiki, ITO
Sachiko, HANEDA Masataka, ISOBE
Ken-ichi. The immunohistochemical
study of B cell differentiation in the
bone marrow with age. 第30回日本免疫
学会総会2006.12.

工藤幸司、古本祥三、岡村信行、丸山将
浩、田代学、舟木善仁、石川洋介、加藤
元久、赤津裕康、山本孝之、成田勉、古
川勝敏、岩田錬、伊藤正敏、谷内一彦、
荒井哲行 アルツハイマー病の早期診
断のためPETプローブの開発
東北大学先進行医工学研究機構第2回
公開シンポジウム(2006.1.24)

赤津裕康、松本光弘、宮本圭子、山本淑
子、芦田欣也、高見正雄、小橋修
胃瘻造設患者へのタンパク質補給食品
(メイプロテイン)の栄養介入による栄
養改善効果 第21回日本静脈経腸栄
養学会(2006.1.27)

澤田徹、岡村信行、工藤幸司、谷内一彦、赤津裕康、山本孝之 アミロイド β 蛋白の画像化によるアルツハイマー病の早期診断 痴呆を語る会(2006. 2. 18)

澤田徹、岡村信行、工藤幸司、谷内一彦、赤津裕康、山本孝之 PETによる β アミロイドイメージングの可能性 第35回日本神経放射線学会(2006. 2. 23)

赤津裕康、宮本圭子、谷水清美、山本淑子、小橋修、山本孝之 栄養療法にて肝性脳症をコントロールし得た末期肝癌例 第6回愛知NST研究会(2006. 2. 25)

澤田徹、岡村信行、工藤幸司、谷内一彦、赤津裕康、山本孝之 β アミロイドイメージング AD研究会画像診断サブコミティ(2006. 2. 4)

澤田徹、岡村信行、工藤幸司、谷内一彦、赤津裕康、山本孝之 アミロイドイメージング用PETプローブの開発とその臨床応用 第79回日本薬理学会年会(2006. 3. 10)

山縣英久、鐘望涛、田口敬子、名倉潤、川尻真和、秦龍二、赤津裕康、紙野晃人、武田雅俊、三木哲郎 519 候補遺伝子アプローチによるアルツハイマー病関連遺伝子の探索 日本内科学会総会(2006. 4. 14-16)

山縣英久、鐘望涛、田口敬子、赤津裕康、紙野晃人、川尻真和、武田雅俊、三木哲郎 PE-305 リンパ球特異的蛋白チロシンキナーゼはアルツハイマー病の新規リスク遺伝子である 日本神経学会(2006. 5. 11-13)

三木哲郎、山縣英久、満田憲昭、鐘望涛、青木守、赤津裕康、紙野晃人、武田雅俊、小原克彦、小阪憲司 PE-306 ニカストリン遺伝子スプライス変異と確実例アルツハイマー病の関連 日本神経学会(2006. 5. 11-13)

赤津裕康、水上勝義、石井俊、山本孝之、小阪憲司、片桐拓也、内田和彦、朝田隆 アルツハイマー病患者における脈絡叢のプロテオーム解析 日本精神神経学

会(2006.5.11-13)

赤津裕康、三室マヤ、中澤秀嘉、松川則之、山本孝之、堀映、吉田眞理、小阪憲司、橋詰良夫 Amyloid angiopathy を伴った Orthochromatic(sudanophilic) leukodystrophy の一例 第47回日本神経病理学会(2006.5.24-26)

Hiroyasu Akatsu, Hidehisa Yamagata, Jun Kawamata, Kouzin Kamino, Masatoshi Takeda, Takayuki Yamamoto, Tetsuro Miki, Ikuo , Shun Shimohama, Kenji Kosaka. Variations in the Brain-Derived Neurotrophic Factor(BDNF) Gene in autopsy-confirmed Alzheimer's disease(AD) or Dementia with Lewy bodies(DLB) in Japan 第一回国際ブレインバンク会議 (2006.6.13-15)

Kazuki Satoh, Mitsumi Hata, Seiji Takahara, Tomoko Shimizu, Hidetoshi Tsuzaki, Hiroshi Yokota, Hiroyasu Akatsu, Takayuki Yamamoto, Kenji

Kosaka and Tatsuo Yamada

Novel genes transcriptionally induced in senile-plaque associated astrocytes 第20回国際生化学・分子生物学会議/第11回アジア・オセアニア生化学者・分子生物学者連合会議/第79回日本生化学会大会、第29回日本分子生物学会年会および第59回日本細胞生物学会大会との共同開催 (2006.6.18-23)

Hiroyasu Akatsu, Masahiro Umezu, Takashi Ishii, Hideyuki Suzuki, Takayuki Yamamoto, Takuya Katagiri, Katsuyosi Mizukami, Takashi Asada, Kenji Kosaka, Kazuhiro Uchida Proteome analysis of choroid plexus in Alzheimer's disease 第20回国際生化学・分子生物学会議/第11回アジア・オセアニア生化学者・分子生物学者連合会議/第79回日本生化学会大会、第29回日本分子生物学会年会および第59回日本細胞生物学会大会との共同開催(2006.6.18-23)

Saori Hata, Yoichi Araki, Hiroyasu

Akatsu, Katsuya Urakami, Masaki Nishimura, Tadashi Nakaya, Toshiharu Suzuki β -Alc α , metabolic products of Alcadin, as a novel diagnostic marker in CSF of Alzheimer's disease
国際アルツハイマー学会
(2006.7.15-20)

Hiroyasu Akatsu, Masahiro Umezu, Takashi Ishii, Hideyuki Suzuki, Takuya Katagiri, Katsuyosi Mizukami, Takashi Asada, Kenji Kosaka, Kazuhiro Uchida Choroid plexus proteome analysis in Alzheimer disease
ICGP 6th Annual Meeting(2006.10.3-6)

Ikuo Tooyama, Tomoko Kato, Yoshihiro Konishi, Shun Shimohama, Teruyuki Tsuji, Hiroyasu Akatsu The interaction of α 1-chimaerin protein with β -amyloid in culture cells
ICGP 6th Annual Meeting(2006.10.3-6)

Nobuyuki Okamura, Yukitsuka Kudo, Shozo Furumoto, Katsutoshi Furukawa, Manabu Tashiro, Motohisa Kato,

Hiroyasu Akatsu, Tohru Sawada, Kazuhiko Yanai, Hiroyuki Arai
In vivo imaging of amyloid plaques in the brain: [11C]BF-227 PET study.
ICGP 6th Annual Meeting (2006.10.3-6)

Kazuki Satoh, Mitsumi Hata, Seiji Takahara, Tomoko Shimizu, Hidetoshi Tsuzaki, Hiroshi Yokota, Hiroyasu Akatsu, Takayuki Yamamoto, Kenji Kosaka and Tatsuo Yamada Novel genes transcriptionally induced in senile-plaque associated astrocytes
第36回米国ニューロサイエンス
(2006.10.14-18)

赤津裕康、三室マヤ、谷由章、山本孝之、堀映、橋詰良夫 パーキンソニズムと認知症状を伴った1剖検例 第34回臨床神経病理懇話会(2006.11.18-19)

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

分担研究報告書

加齢にともなうモノアミン系の相互作用に関する電気生理学・形態学的評価

分担研究者 城川哲也 日本福祉大学情報社会科学部 教授

研究要旨：中高年の自殺の背景にはうつ病があり，今後さらに高齢化が進む我が国において，うつ病の解明と予防は急務となっている．本研究では，加齢に伴ううつ病の機序として，ノルアドレナリン(NA)系およびセロトニン(5-HT)系の相互作用に着目し，加齢動物を用いた電気生理学的解析を行った．ラットの青斑核よりNAニューロン，背側縫線核より5-HTニューロンを記録し，前頭葉に投射する神経終末の加齢変化を電気生理学的に解析した．その結果，1)モノアミン神経終末の相互作用が17月齢を中心に見られ，2)特異的神経毒により変性した5-HT神経終末に対して，抗うつ薬 maprotiline が5-HT終末の再生を促進することが確認された．

A. 研究目的

中高年の自殺の背景にはうつ病があり，今後さらに高齢化が進む我が国において，うつ病の解明と予防は急務となっている．本年度は，加齢に伴ううつ病の機序として，ノルアドレナリン(NA)系およびセロトニン(5-HT)系の相互作用に着目し，加齢動物を用いた電気生理学的・形態学的解析を行った．

B. 研究方法

(1) 電気生理学

加齢ラット（3～24月齢）の青斑核(LC)および縫線核(RD)からニューロンを記録し，それぞれの投射部位である前頭葉における神経終末の発芽の程度を電気生理学的に調べ，終末間の相互作用について解析した．

(2) 免疫組織化学

NAおよび5-HT神経終末を免疫組織化学的に染色し、電気生理学的解析結果と比較した。

(3) 特異的神経毒抗うつ薬投与実験
NAニューロンあるいは5-HTニューロンに特異的な神経毒を投与し、NAニューロンと5-HTニューロン間の相互作用について解析した。

(倫理面への配慮)

実験中にはラットに苦痛を与えぬよう十分に配慮した。

C. 研究結果

(1) 前頭葉の投射部位における発芽が17月齢を中心にいずれの終末においても増加し、LCニューロンとRDニューロンの終末間での相互作用が示唆された。

(2) 特異的神経毒の投与によって変性した5-HT神経終末に対して、抗うつ薬maprotilineが5-HT終末の再生を促進することが確認された。一方、変性したNA神経終末に対してmaprotilineは再生を促進しなかった。

D. 考察

(1) 前頭葉におけるNAおよび5-HT神経終末の発芽がいずれも17月齢を中心に増加したことから、加齢に伴う両終末間での相互作用が示唆された。

(2) 5-HT神経終末の再生が、抗うつ薬であるNA取り込み阻害薬maprotilineの投与によって促進されたことから、うつ病の回復にNA系から5-HT系への働きかけが重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

E. 結論

加齢に伴うモノアミン神経終末の発芽が17月齢を中心に見られ、抗うつ薬maprotilineが5-HT終末の発芽を促進することが確認された。これらの結果は、加齢に伴ううつ病の機序としてモノアミン系の相互作用が関与する可能性を示唆した。

G. 研究発表

(1) 論文発表

Nakai, S., Matsunaga, W., Ishida, Y., Isobe, K. and Shirokawa, T. Effects of BDNF infusion on the axon terminals of

locus coeruleus neurons of aging rats. Neuroscience Research, 54: 213-219, 2006.

Nakai, S., Matsunaga, W., Isobe, K. and Shirokawa, T. Age-dependent interactive changes in serotonergic and noradrenergic cortical axon terminals in F344 rats. Neuroscience Research, 54: 220-229, 2006.

Matsunaga, W., Isobe, K. and Shirokawa, T. Involvement of neurotrophic factors in aging of noradrenergic innervations in hippocampus and frontal cortex. Neuroscience Research, 54: 313-318, 2006.

Ishida Y, Okawa Y, Ito S, Shirokawa T and Isobe K. Age-dependent changes in dopaminergic projections from the substantia nigra pars compacta to the neostriatum. Neuroscience Letters, in press.

(2) 学会発表

城川哲也「脳のエイジングと可塑性」
第47回日本人間ドック学会学術大会
シンポジウム、2006年9月14～
15日、沖縄。

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）
分担研究報告書

加齢にともなうモノアミン系の相互作用に関連する分子

分担研究者 磯部健一（名古屋大学大学院医学系研究科分子細胞免疫 教授）

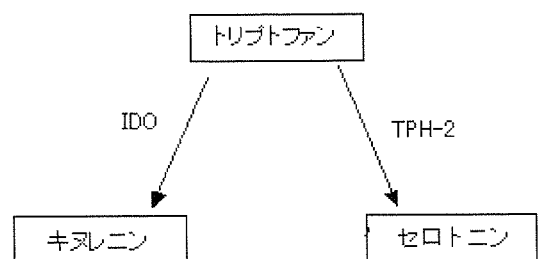
研究要旨：高齢者のうつの問題はこれからの日本の重要な課題である。セロトニンの神経終末における再取り込みの低下がうつ発症に関与することはほぼ間違いないが、セロトニンはトリプトファンからつくられ、一方、トリプトファンはIDO酵素で多くがキヌレニンやその下流の物資に変換される。本研究ではうつに類似した状態をマウスでつくれないかと様々な試みを試し、親から離す分離飼育と、全く新しいケージに入れ換える新規環境ストレスがトリプトファン代謝に影響を与えることを見いだした。キヌレインは海馬を除いてほとんどの部位でストレスにより増加した。ストレスによりTRP代謝のバランスが、5-HT産生からKYN産生側にシフトした。加齢の影響はトリプトファン産生の低下と5HTの増加に見られた。

A. 研究目的

高齢者のうつ問題はこれからの日本の重要な課題である。セロトニンはトリプトファンからつくられ、最近脳内に特異的に存在する TPH-2酵素がそれを選択的に触媒することが判明した

(Sincece 305: 217; 2004)。一方、トリプトファンは炎症性刺激によって活

性化されるIDOによってキヌレニンに変化する（下図）。



これらのことからうつに関係するセ

ロトニン神経終末はノルアドレナリンを介する精神的ストレスと、炎症性ストレスに大きく影響をうけることが予想される。実際マクロファージが活性化され、サイトカインによりIDOが賦活され、脳内トリプトファン代謝がキヌレニン系にシフトすることが、うつ病の発症、病態生理に関係するという仮説がある。我々は昨年仕事を発展させ、マウスに与える心理的ストレスの脳内トリプトファン代謝に加齢を加えてより詳細に解析した。

B. 研究方法

(1) マウスモデル

ICRマウスを生後21日で親から分離1匹/ケージでの「分離飼育」を行い、飼育最終日に、「新規環境ストレス」(20分間、生まれて初めて行動測定用容器に入れる)を負荷する。

飼育期間を4週間とする「若年群」と生後6ヶ月まで延長する「老年群」に分ける。

最終的な群分けは、「飼育環境：分離、集団」「新規環境ストレス：なし、あり」、「加齢：若年、老年」の組み合わせによ

り $2 \times 2 \times 2 = 8$ の8群となる。

生化学的測定

1. 脳から前頭前野、海馬、扁桃核、背側縫線核を切り出し、トリクロロ酢酸溶液(内部標準、イソプロテレノール、3-ニトロ-L-チロシン)でホモゲナイズ、冷却遠心して、上清をろ過して、検体とする。
2. 高速液体クロマトグラフィー(HPLC)と蛍光検出器、紫外線検出器を組み合わせた系でトリプトファン(TRP)、キヌレニン(KYN)を測定し、HPLCに電気化学検出器を組み合わせた系でセロトニン(5-HT)を測定した。
3. TRP, KYN, 5-HTおよびキヌレニン系およびセロトニン系代謝回転の指標としてKYN/TRP, 5-HT/TRPを統計検定した。

(倫理面への配慮)

実験中にはマウスに苦痛を与えぬよう十分に配慮した。

C. 研究結果

加齢はここでは生後1ヶ月と6ヶ月で

比較している。分離飼育は生後21日で親から分離して1匹ずつ飼育している。ストレスは飼育後20分新しい環境に入れている。

1. トリプトファンはほとんどの部位で加齢により減少、分離飼育により減少、ストレスによって増加した。

2. キヌレインは海馬を除いてほとんどの部位でストレスにより増加した。

3. 5-HTはほとんどの部位で加齢により増加、分離飼育により増加した。

4. KYN/TRPはほとんどの部位で変化しなかった(海馬ではストレスにより減少した)。

5. 5-HT/TRPは加齢、分離飼育で増加し(部位差あり)、すべての部位においてストレスで減少した。

D. 考察

1. ストレスによるTRPの増加は、アミノ酸の能動的脳内取り込みが増しTRP取り込みも他のアミノ酸と競合した結果増加したと考えられる。

2. KYNはストレスによってIDOが新たに誘導、活性化されたのではなく、基質(TRP)濃度の増加により、産生が増

加したと考えられる。

3. 今回の5-HTの加齢による増加は、従来の報告(加齢であまり変化しない～減少するなど様々)とは異なる結果である。

4. ストレスでKYN/TRPが変化しなかったのは、新たにIDOが誘導されずに既存のIDOでKYNが産生されたからと考えられる。

5. ストレスにより5-HT/TRPが減少するのは、ストレスによるTRPの増加分が5-HT産生よりもKYN産生に回された。すなわちTRP代謝のバランスが、5-HT産生からKYN産生側にシフトしたことを示唆している。

E. 結論

キヌレインは海馬を除いてほとんどの部位でストレスにより増加した。ストレスによりTRP代謝のバランスが、5-HT産生からKYN産生側にシフトした。加齢の影響はトリプトファン産生の低下と5-HTの増加に見られた。

G. 研究発表

(1) 論文発表

論文発表