

図1 慢性ストレス負荷マウスの評価

A, B) 行動試験による無動時間の測定. C, D) 海馬歯状回での BrdU 取り込み量で比較した神経新生レベル. E) 血中コルチコステロン量

## II. 慢性ストレス負荷により活性化するシグナルカスケードの同定

この慢性ストレス負荷マウスを用いて、著者らはまず microarray による発現変動因子の網羅的解析を行った。その結果、前頭前野領域における SGK1 (Serum/glucocorticoid regulated kinase 1) mRNA 量の

有意な増加が観察された (図2)。さらにこの SGK1 mRNA 量の増加は脳梁や前交連などの線維束に特異的であり、その大部分がオリゴデンドロサイトに発現していること、血中のコルチコステロン量によりその発現量が調節されていることをみいだした (図3)。

SGK1 はセリン・スレオニンカイネースであり、リン酸化シグナルを伝達する<sup>9,10)</sup>。そこで次に、SGK1

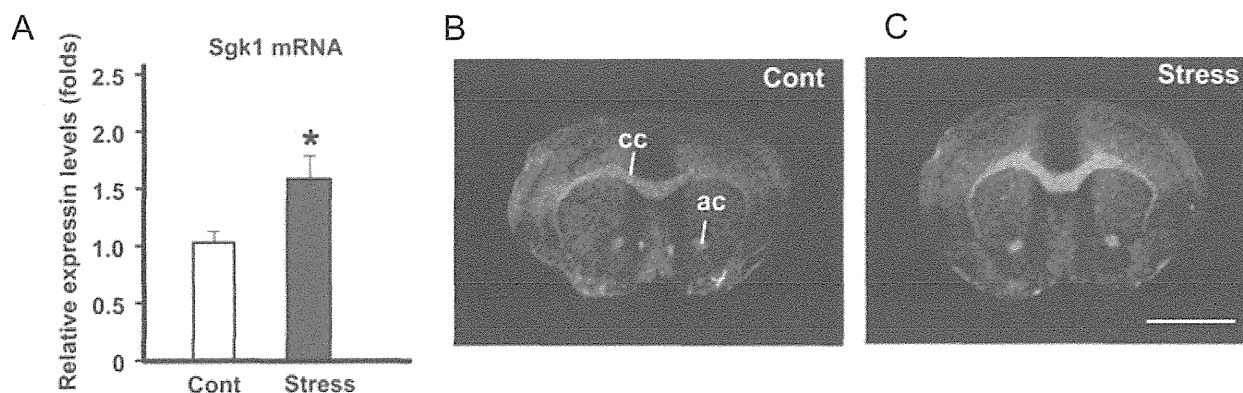


図2 慢性ストレス負荷後の SGK1 mRNA 発現量の増加

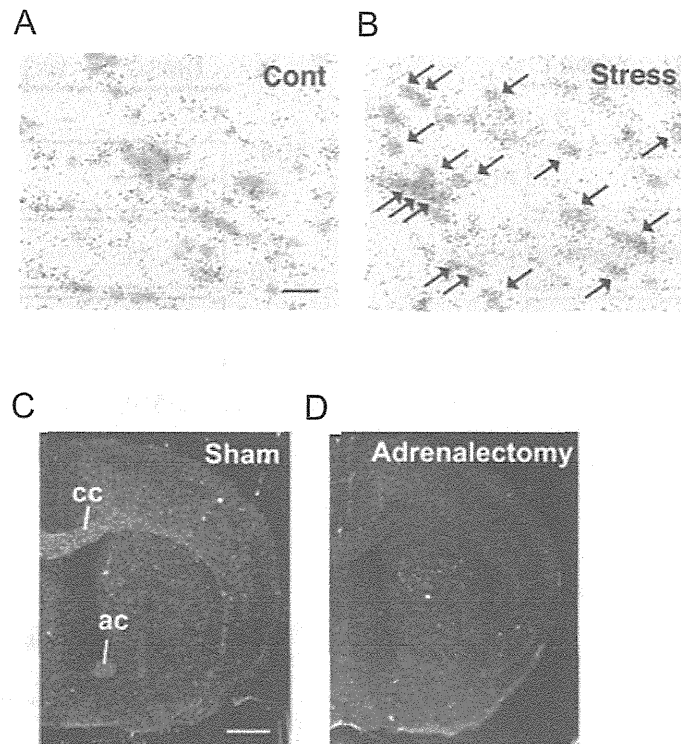


図3 ストレス負荷による SGK1 mRNA 発現変化部位  
A, B) SGK1 mRNA のオリゴデンドロサイト特異的発現増加. C, D) 副腎除去により SGK1 mRNA の発現が低下する

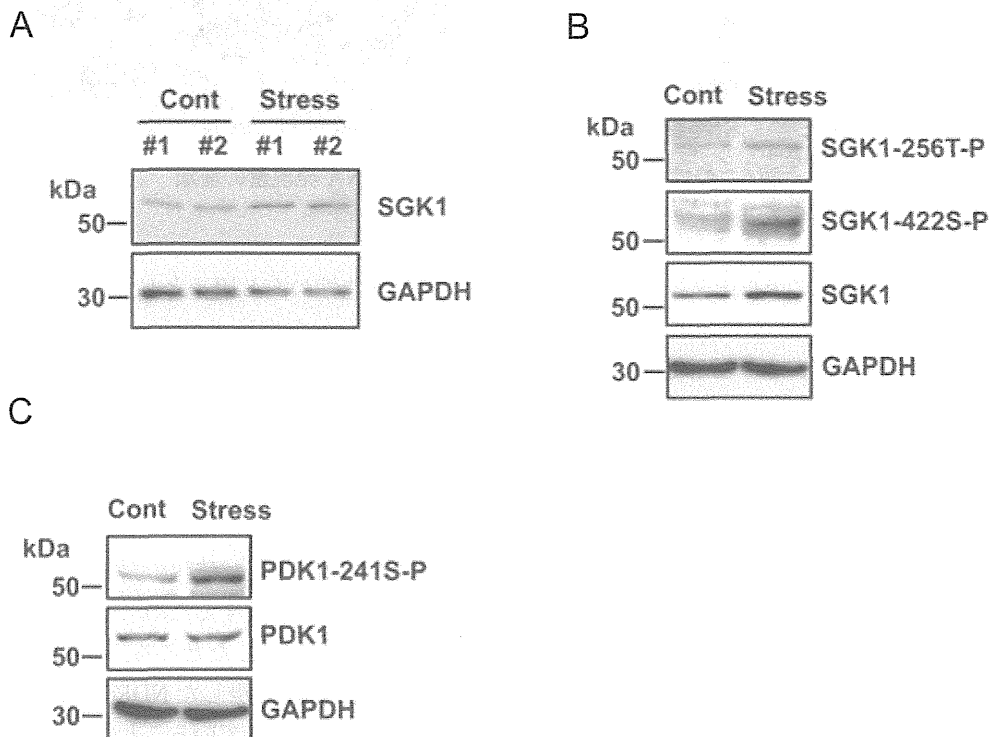


図4 慢性ストレス負荷による脳梁での SGK1 タンパクの発現増加と PDK1, SGK1 のリン酸化亢進

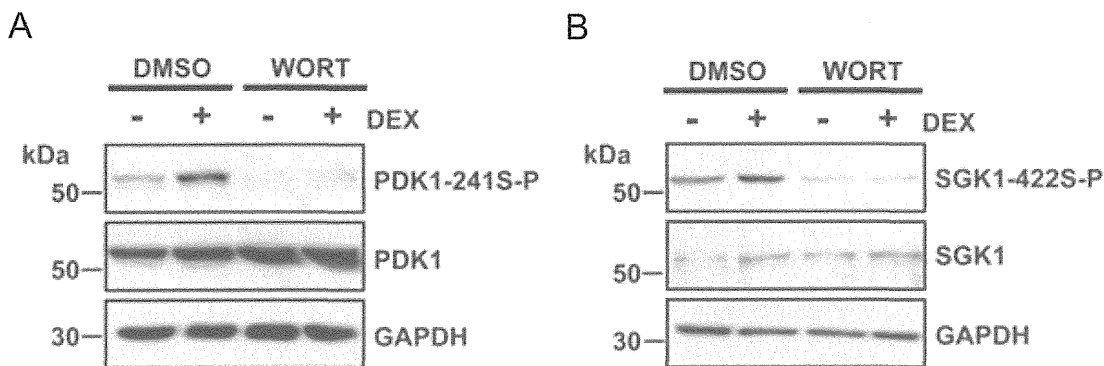


図5 培養細胞を用いた PDK1, SGK1 リン酸化の検討  
合成グルココルチコイドデキサメタゾン (DEX) 添加により両者のリン酸化が亢進する.  
PI3K シグナルの阻害剤 wortmannin (WORT) 前処理により両者のリン酸化も観察されなくなる.

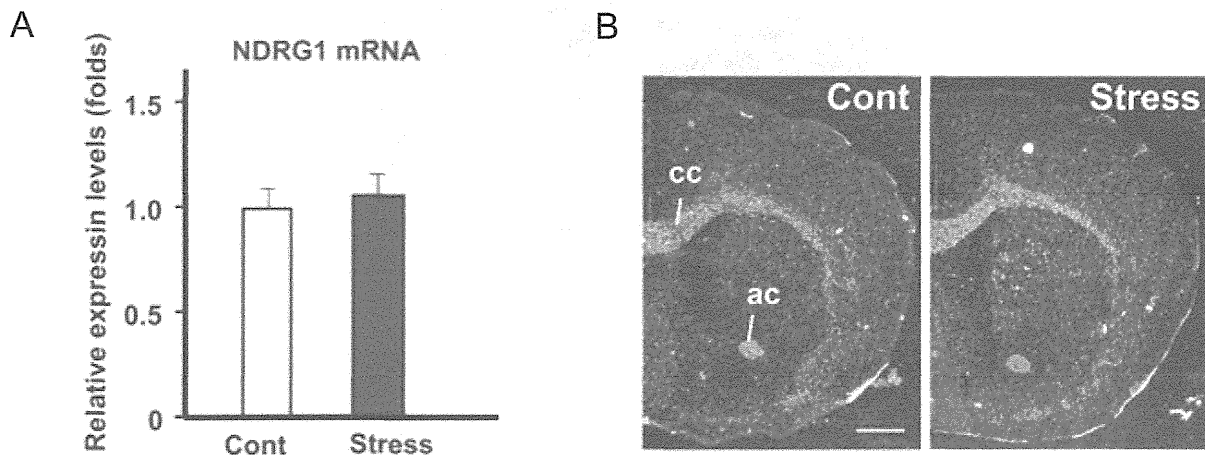


図6 慢性ストレス負荷後の SGK1 mRNA 発現量の増加

タンパクの活性化およびシグナル伝達経路の同定を試みた. その結果, PI3K シグナルのひとつ PDK1 のリン酸化が慢性ストレス負荷により誘導され, SGK1 がリン酸化を受けることを明らかにした(図4). さらに, この PDK1 および SGK1 のリン酸化の亢進はグルココルチコイド量の増加により誘導されることをみいだした(図5).

### ◆ III. オリゴデンドロサイトにおける SGK1 との相互作用因子

著者らはさらに, SGK1 の下流に存在する標的因子の探索を行った. その結果, 脳においてはオリゴデンドロサイトに発現しており, かつ SGK1 の基質で

ある可能性のある因子として NDRG1 (N-myc downstream regulated gene 1) をみいだした<sup>11-13)</sup>. この NDRG1 は線維束特異的な発現パターンを示すものの, 慢性ストレス負荷では発現量は変化しなかった(図6). しかし, SGK1 との相互作用レベルの亢進が観察されると共に NDRG1 リン酸化レベルの亢進も観察された(図7A).

この NDRG1 リン酸化の亢進が SGK1 リン酸化によるものか否か確認するために SGK1 の活性化体を培養細胞に強制発現したところ, 内在性に発現している NDRG1, 強制発現した NDRG1 とともにリン酸化レベルが確かに亢進していることを確認した(図7B-D).

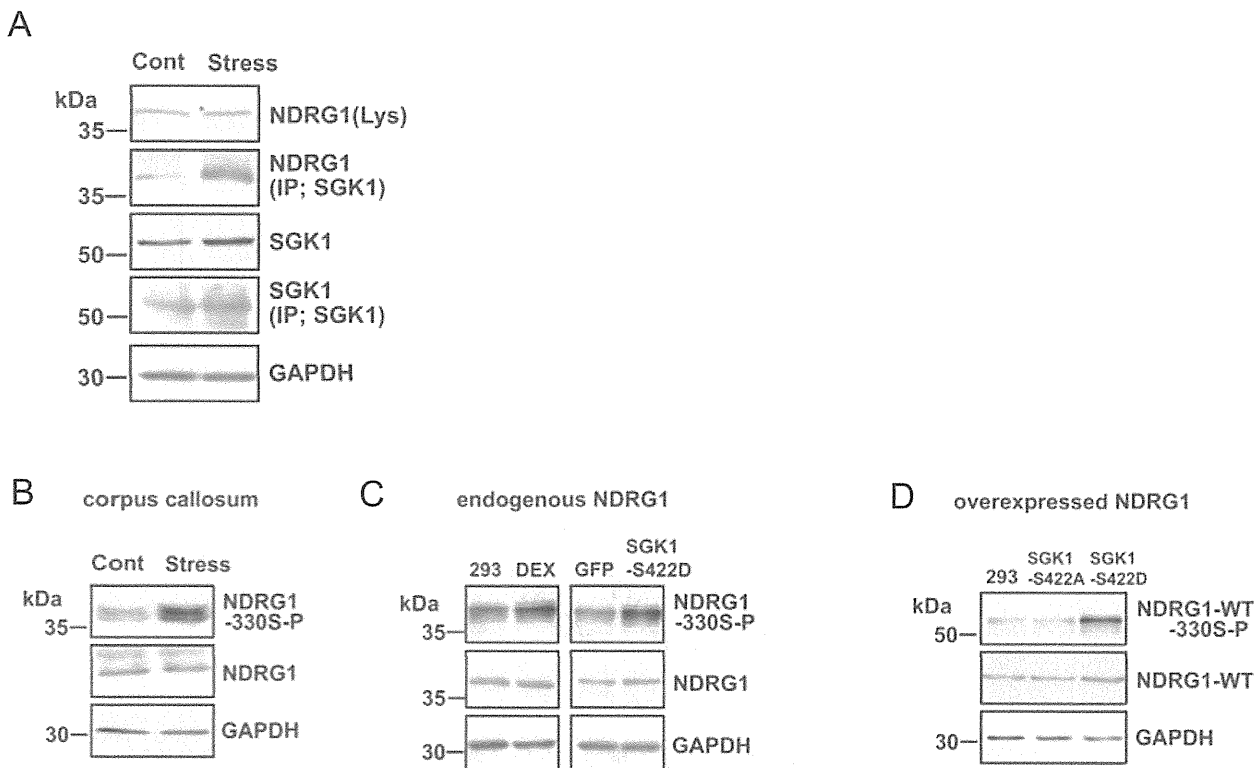


図7 慢性ストレス負荷による脳梁での SGK1-NDRG1 相互作用量増加と培養細胞を用いた NDRG1 のリン酸化亢進

◆ IV. ストレス負荷に対する抑肝散の効果

この反応系を用いて、著者らはストレス負荷によって生じたうつ病態に対する抑肝散の効果の検討を試みた。慢性ストレス負荷時の検討に先立ち、まず単回ストレス負荷時の応答について検討を加えた。その結果、抑肝散の前投与により血中コルチコステロンの上昇が抑制された。さらに、各抑肝散構成生薬7種についてストレス時の血中コルチコステロン量および SGK1 発現量を検討したところ、これら構成生薬中カンゾウ、サイコ、ブクリョウにストレス反応を抑制する可能性が示唆された(図8)。

◆ まとめ

著者らの作製した慢性ストレス負荷マウスはうつ病態を示すモデルマウスであり、このマウスの脳内では、線維束オリゴデンドロサイト特異的な SGK1 mRNA の発現上昇が血中コルチコステロンの上昇により引き起こされていた。さらに、慢性ストレス負荷特異的に PDK1-SGK1-NDRG1 のリン酸化が起きることをみいだした。この系を利用して、抑肝散のうつ病態に対する効果について検討を行った結果、その構成生薬の一部にうつ病態を改善する効果を有する因子を含む可能性が示唆された。今後のさらなる解析により、抑肝散成分からの抗うつ効果を示す成分の同定に期待される。

## SGK1 western blotting 定量化

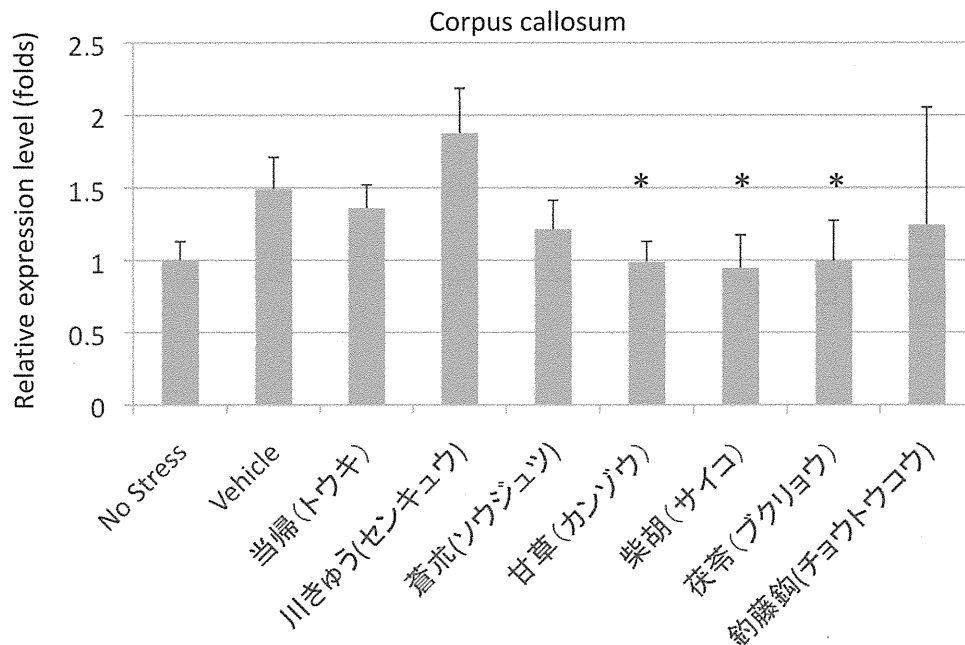


図8 抑肝散の各構成生薬の前投与による、単回ストレス負荷時の SGK1 タンパク量の検討

### 参考文献

- 1) Iwasaki K, et al : A randomized, observer-blind, controlled trial of the traditional Chinese medicine Yi-Gan San for improvement of behavioral and psychological symptoms and activities of daily living in dementia patients. *J Clin Psychiatry* **66** : 248-252, 2005
- 2) Iwasaki K, et al : Effects of the traditional Chinese herbal medicine Yi-Gan San for cholinesterase inhibitor-resistant visual hallucinations and neuropsychiatric symptoms in patients with dementia with Lewy bodies. *J Clin Psychiatry* **66** : 1612-1613, 2005.
- 3) Miyaoka T, et al : Yi-gan san for the treatment of borderline personality disorder: an open-label study. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol Psychiatry* **32** : 150-154, 2008.
- 4) Miyaoka T, et al : Yi-gan san as adjunctive therapy for treatment-resistant schizophrenia: an open-label study. *Clin Neuropharmacol* **32** : 6-9, 2009.
- 5) Monji A, et al : Effect of Yokukansan on the behavioral and psychological symptoms of dementia in elderly patients with Alzheimer's disease. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol Psychiatry* **33** : 308-311, 2009.
- 6) Shinno H, et al : Successful treatment with Yi-Gan San for psychosis and sleep disturbance in a patient with dementia with Lewy bodies. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol Psychiatry* **31** : 1543-1545, 2007.
- 7) Shinno H, et al : Successful treatment with Yi-Gan San for rapid eye movement sleep behavior disorder. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol Psychiatry* **32** : 1749-1751, 2008.
- 8) Miyata S, et al : Plasma corticosterone activates SGK1 and induces morphological changes in oligodendrocytes in corpus callosum. *PLoS One* **6** : e19859, 2011.
- 9) Kobayashi T, et al : Characterization of the structure and regulation of two novel isoforms of serum- and glucocorticoid-induced protein kinase. *Biochem J* **344** : 189-197, 1999.
- 10) Park J, et al : Serum and glucocorticoid-inducible kinase (SGK) is a target of the PI 3-kinase-stimulated signaling pathway. *EMBO J* **18** : 3024-3033, 1999.
- 11) Berger P, et al : Expression analysis of the N- Myc downstream-regulated gene 1 indicates that myelinating Schwann cells are the primary disease target in hereditary motor and sensory neuropathy-Lom. *Neurobiol Dis* **17** : 290-299, 2004.
- 12) Okuda T, et al : Differential expression patterns of NDRG family proteins in the central nervous system. *J Histochem Cytochem* **56** : 175-182, 2008.
- 13) Murray JT, et al : Exploitation of KESTREL to identify NDRG family members as physiological substrates for SGK1 and GSK3. *Biochem J* **384** : 477-488, 2004.

