

うつ病のマウスモデルに対する睡眠を標的とした介入の作用機序の解析

岡村 響 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 中田 和人 (筑波大学 生命環境系)

【背景と目的】

うつ病は、主要な精神疾患のひとつである。厚生労働省の報告によると、平成 29 年度のうつ病と双極性障害を合わせた気分障害の患者数は約 130 万人であり、大きな社会問題となっている。

うつ病の症状は、身体症状と精神症状に大別される。精神症状には、興味や意欲の低下、不安感の増大、絶望感などが挙げられ、身体症状には、体重の大幅な変化、睡眠障害などが挙げられる。とくに、睡眠障害はうつ病患者の約 90%にみられ、重要な症状のひとつとされる。しかし、うつ病と睡眠とがどのように影響し合っているのか、因果関係はわかっていない。

神経生理学における従来の技術では、人為的に睡眠段階を操作することは不可能であった。しかし、所属研究室において、睡眠段階を制御する新規の神経細胞集団が同定された(柏木ら、未発表)。それらの神経細胞集団を化学遺伝学的手法により興奮させることで、一時的に睡眠段階を操作することが可能となり、睡眠段階を操作して、生じる影響を検証するための糸口が開かれた。現在、当研究室の安垣らがうつ病のマウスモデルに対して人為的に睡眠を操作し、うつ状態に及ぼされる影響を明らかにしようと試みている。これまでに、継続的に睡眠段階を操作したうつ病のマウスモデルでは、対照群と比べ、ストレス誘発性の行動表現型に変化が生じることが明らかにされた。そこで本研究では、睡眠操作により生じた行動表現型の変化についてサンプル数を増やして追加検証した。さらに、睡眠を操作したマウスと操作していないマウスについて、ストレス曝露に対して興奮性・応答性に差のある脳部位の特定を目指した。

【方法】

(1) うつ病のマウスモデルの作製と行動解析による行動表現型の評価

うつ病のマウスモデルの作製にあたり、慢性ストレスを用いた。ストレスを繰り返し与えることにより、マウスは最終的にうつ状態を呈するようになる。うつ状態は、行動解析により評価した。また、ストレス曝露期間中、日々の体重の変化も記録した。

(2) 化学遺伝学的手法による睡眠操作

化学遺伝学的に睡眠を操作する手法として用いたのは、Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drugs (DREADD) である。DREADD では、アデノ随伴ウイルスベクターを用いて人工的にデザインされた受容体の遺伝子を導入する。今回導入したのは、神経興奮を誘導する G タンパク質共役型受容体 hM3Dq の遺伝子である。標的となる神経細胞に hM3Dq が導入されれば、リガンドである Clozapine-N-Oxide (CNO) を腹腔内投与することで、一時的に神経活動を増加させることができる。この技術を、睡眠段階を制御する神経集団を標的として適用することで、一時的に、マウスの睡眠を操作することが可能となる。

(3) 睡眠の解析

マウスの頭部に脳波および筋電図測定用の電極を外科的手術により取り付けられた。記録された脳波と筋電図は、4 秒ごとに区切り、睡眠段階を判定した。

(4) 脳切片の作製および c-Fos に対する免疫染色

マウスをストレスに曝露したときの脳の活動状態を調べるために、c-Fos に対する免疫染色を行った。c-Fos とは、神経活動の指標となる遺伝子産物である。ストレスに曝露したマウスの脳を灌流固定し、一晩の後固定ののちに脳全体を 80 μm ずつに薄切した。その後、c-Fos に対する免疫染色を行い、スライドグラスに封入して脳切片標本作製した。顕微鏡画像は、バーチャルスライドスキャナで撮影した。

【結果・考察】

詳細な結果と考察については発表会にて提示する。