

【主論文の要約】

脊椎動物の冬季うつ様表現型に関するオミクス研究

名古屋大学大学院生命農学研究科 動物統合生理学研究室

沖村 光祐

熱帯以外の地域では、一年の中で日長や温度、降水量などの環境が季節によって変化する。そのような地域に棲息する脊椎動物の生理機能や行動は季節情報の影響を受けて変化する。季節繁殖は脊椎動物が示す季節応答の代表例である。当研究室では、洗練された季節応答を示すウズラを用いることで、脊椎動物の季節繁殖の制御機構を解明してきた。興味深いことに、我々ヒトにおいても、気分や代謝、免疫機能などの生理機能や肺がんや循環器疾患などの発症リスクは季節変動することが知られている。その中でも、私は「冬季うつ病 (winter depression)」とも呼ばれる季節性感情障害に着目した。冬にのみ不安感・焦燥感の増大、性欲や社会性の低下、食欲や睡眠の障害が現れる冬季うつ病は北米や北欧の高緯度地域における罹患率は約 10%であると推算され、自殺の原因ともなることから社会問題となっている。高緯度地域に比べて低緯度地域では患者数が少ないことや、高照度光療法が有効な治療方法であることから、冬における日長や日照時間の減少が冬季うつ病発症の環境要因であると考えられているが、その分子機構は不明である。うつ病は多因子性の複雑な精神疾患であることから、発症の仕組みの解明には発見駆動型の多角的で網羅的なアプローチが必要であると考えた。洗練された季節応答を示すウズラに着目した研究が脊椎動物の季節繁殖の開始機構の解明に大きく貢献した様に、本研究では、メダカ、マウス、アカゲザルの三種の脊椎動物の生理機能やその季節応答の特徴にスポットライトを当てて、脊椎動物の冬季うつ様表現型に関してオミクス解析を行った。

メダカは長日繁殖動物であり、色覚やストレス応答などの行動や生理機能にも季節変動がある。メダカのような小型魚類においても神経系の活動やそれらを標的とする薬の効果はヒトと相同性が高いことから、近年、欧米のメガファーマを中心に神経疾患のモデル動物として利用されている。以上のメダカの特徴に着目して実施された当研究室の先行研究で、短日低温の冬条件で飼育したメダカは長日温暖の夏条件で飼育した時に比べて、不安様行動が増加し、社会性が低下することが明らかになった。さらに、このメダカの冬季うつ様行動は中国伝統医薬由来成分のセラストロールによって回復することも見つけられていた。しかし、どのような分子機構がメダカの冬季うつ様行動を制御しているのか、また、どのようにセラストロールが冬季うつ様行動の回復に効果を示しているのかは解明されていなかった。本研究では、冬条件と夏条件で飼育したメダカの

脳を用いたメタボローム解析で代謝物の季節変化を調べた。その結果、抗酸化物質のグルタチオンが冬型環境のメダカの脳で減少していた。さらに、先行研究で実施されたメダカの脳のマイクロアレイ解析結果を用いたカノニカルパスウェイ解析を行った結果、炎症や免疫反応に関わる複数のパスウェイが季節間で変化していることが明らかになった。脳における酸化ストレスや炎症はうつ病の発症に関連があることが指摘されている。特に、NRF2 が制御する抗酸化反応経路は冬条件のメダカの脳で活性が低くなっていたが、NRF2 はセラストロールの標的分子の一つであることが知られている。過去に、*Nrf2* 欠損マウスはうつ様行動を示すことが報告されている。以上のことから、本研究によって、NRF2 抗酸化反応経路がメダカの冬季うつ様行動を制御しており、冬季うつ様行動を改善するセラストロールの標的であると示唆された（第 I 章）。

冬季うつ病患者の表現型には冬における眼の光応答性の低下が網膜電位図 (electroretinogram: ERG) を記録した研究で報告されている。眼で受容され脳へ伝えられる光刺激の情報は気分に影響することが近年報告されている。また、上述した通り、冬における日長や日照時間の減少が冬季うつ病の発症の環境要因であると考えられている。そのため、眼の機能が冬季うつ病の発症に関連する可能性が指摘されているが、眼の光応答性の季節変化の分子機構は解明されていない。マウスは最も普及した哺乳類のモデル動物である。実験用に近交化されたマウスの生殖腺の大きさに明瞭な季節変化はないが、メラトニン産生能を有する CBA/N 系統は脳の遺伝子発現レベルで季節変化に反応することから、マウス哺乳類の季節応答の分子機構の研究におけるモデル動物として利用されている。また、マウスは ERG の記録の技術基盤が確立している。このような特徴に着目し、本研究ではマウスの眼の光応答性の季節変化の分子機構の解明を行った。ERG を記録した結果、夏型の長日温暖条件で飼育した時に比べて、冬型の短日低温条件で飼育した CBA/N マウスの眼の光応答性は弱くなることが明らかになった。この眼の光応答性の季節変化の分子機構を明らかにするために行ったトランスクリプトーム解析では、ドパミン産生の律速酵素 (tyrosine hydroxylase: TH) をコードする *Th* 遺伝子の発現量が冬型条件で飼育したマウスの眼で減少することがわかった。ドパミンは網膜の光応答性に影響することが知られている。さらに、眼の光応答性と *Th* 遺伝子の発現量の季節変化は温度ではなく日長によって制御されることが明らかになった。続いて、眼の光応答性の季節変化への薬理的介入を検討した。ドパミン受容体作動薬により短日条件のマウスの眼の光応答性は回復し、ドパミン受容体拮抗薬により長日条件のマウスの眼の光応答性は弱くなった。さらに、cAMP 経路を薬理的に活性化することで短日条件のマウスの眼の光応答性を回復することができた。以上のことから、マウスの眼の光応答性の季節変化は日長依存的なドパミン量の変化が制御していることが示された（第 II 章）。

進化的にヒトと近縁なサルを用いた研究は、ヒトの生理機能や病態を理解するために必要な役割を果たしてきた。特に、アカゲザルは短日繁殖動物であることに加えて、冬

型の環境ではうつ様行動を示すことが知られている。したがって、アカゲザルの生理状態の季節変化を調べることで、ヒトにおける冬季うつ病を含めた生理機能の季節変化の分子機構の解明に貢献できると考えられた。京都大学霊長類研究所で野外飼育したアカゲザルの生理状態の季節変化を調べた。形態学的な観察やホルモン濃度の測定によって、秋から冬に繁殖に関わる機能が活発になっていることが明らかになった。また、アカゲザルの網膜の *TH* 遺伝子の発現量の季節変化を定量 PCR 法で調べた結果、マウスと同様に夏に比べて冬に減少していた。このことから、アカゲザルの眼の光応答性も季節間で変化する可能性が考えられた。さらに、全身の生理状態の季節変化を調べるために血漿を用いたメタボローム解析を行った。その結果、うつ病のバイオマーカーで、ストレスや炎症によって産生が亢進されるキヌレニンが、夏に比べて秋から冬に増加することが明らかになった。また、抗酸化反応に関連する代謝物であるシスチンとシスタチオニンの存在量も季節変動することが示された。以上の結果から、アカゲザルの体内でもメダカの脳と同様に酸化ストレスが季節変化している可能性が考えられた（第 III 章）。

本研究によって、脊椎動物の冬季うつ様表現型の分子機構には、炎症反応やドパミンシグナル経路が関与することが示された。これらはヒトのうつ病にも関与することが報告されている。三種の脊椎動物の生理機能やその季節応答に着目した本研究の成果は、将来ヒトの冬季うつ病の病態の解明、バイオマーカーの開発、さらには創薬に貢献することが期待される。