

# ストレスによる精神障害における脳炎症の関与

北陸大学薬学部医療薬学講座薬理学分野

松尾 由理

## 1. はじめに

ストレスによる精神障害は、現代社会の深刻な問題になっている。多くの向精神薬が処方されているにも関わらず、回復しない、若しくは再発するなど、患者数は増加の一途を辿っており、より良い治療法の開発が切に望まれる。新たな治療法の開発には、ストレスによる精神障害の発症・増悪機序を明らかにすることが必須である。私はこれまで、脳虚血やパーキンソン病などの動物モデルにおいて、脳内のグリア細胞が活性化し、炎症性サイトカインやプロスタグランジンE<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) などの炎症物質が産生すること、また、これら炎症反応とこれによる神経機能障害において、誘導型のPGE<sub>2</sub>合成酵素である膜結合型PGE<sub>2</sub>合成酵素 (mPGES-1) が増悪因子であることを明らかにしてきた (参考文献1-6)。本研究では、ストレスによる神経機能障害における炎症反応の寄与について、特にmPGES-1の役割に焦点を当てて検討した。mPGES-1は誘導型酵素であるため、外部環境の変化に敏感に反応し、炎症反応を増幅することで神経機能を障害すると予想される。本研究より、急性拘束ストレス後に、海馬や前頭皮質にてmPGES-1が発現誘導し、これが脳内PGE<sub>2</sub>産生に寄与することが明らかとなった。今後さらに、神経機能やうつ様行動におけるmPGES-1の役割が明らかになれば、ストレス後の脳炎症反応と、これによる神経機能障害・精神障害の発症や増悪の新たな機序が明らかとなるだけでなく、mPGES-1が新たな精神疾患治療ターゲットとなる可能性が期待される。

## 2. 方法

### (1) 急性或いは慢性拘束ストレスモデルでの前頭皮質、海馬での mPGES-1 誘導

5週齢の ddY 雄性マウスに急性ストレス (6時間の拘束ストレス)、慢性ストレス (2時間の拘束ストレスを2週間或いは3週間処置) 処置した。ストレス負荷直後、或いは、24時間後に、情動行動に関与する前頭皮質、海馬、ストレスホルモンに関与する視床下部を部位分けした後、mPGES-1 mRNA の発現を Real-time PCR 法にて解析した。

### (2) ストレスによる前頭皮質、海馬、視床下部での PGE<sub>2</sub> 産生

ストレス負荷した動物の前頭皮質、海馬、視床下部を部位分けした後、PGE<sub>2</sub> 量を EIA キット (Cayman) にて、添付文書に従い測定した。

### (3) ストレスによる mPGES-1 誘導の PGE<sub>2</sub> 産生への寄与

mPGES-1 欠損型と野生型マウス (C57BL/6 系雄性マウス 28~32 g) を用いて急性ストレスモデルを作成し、その直後、或いは、24時間後に前頭皮質、海馬を摘出し、PGE<sub>2</sub> 産生量を比較検討した。

### (4) mPGES-1 のグリア細胞活性化、炎症性サイトカイン発現

ストレス負荷後の mPGES-1 欠損型と野生型マウスの前頭皮質、海馬を摘出し、アストロサイトマーカである GFAP、ミクログリアマーカである Iba-1、炎症性サイトカインである IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  の mRNA 発現を、Real-time PCR 法にて解析した。

### 3. 結果

#### (1) 急性或いは慢性拘束ストレスモデルでの前頭皮質、海馬での mPGES-1 誘導

2 時間の拘束ストレスを 2 週間或いは、3 週間毎日負荷したところ、視床下部において、2 週間後に COX-2 mRNA が、3 週間後に mPGES-1 mRNA が発現増加する傾向があった。一方、その他の部位では大きな変化は無く、前頭皮質では 2 週間のストレス負荷後に、むしろ低下する傾向があった。慢性的に弱いストレスを付加することで、動物はストレスに適応している可能性が考えられた。そこで、短時間の強いストレスによる変化を検討することとし、6 時間のストレスを 1 度だけ負荷した後の、脳内の変化を検討した。急性ストレス 24 時間後に、海馬において mPGES-1 と COX-2 の有意な発現増加が認められ、前頭皮質においても両者の発現増加傾向が認められた。

#### (2) ストレスによる前頭皮質、海馬、視床下部での PGE<sub>2</sub> 産生

急性ストレス 24 時間後の視床下部、海馬、前頭皮質での PGE<sub>2</sub> 産生量を測定したところ、視床下部では産生量が低く、ストレスによる変化は見られなかった。一方、海馬、前頭皮質では増加傾向がみられ、特に前頭皮質では顕著に増加した。

#### (3) ストレスによる mPGES-1 誘導の PGE<sub>2</sub> 産生への寄与

急性ストレス後の脳内 PGE<sub>2</sub> 産生増加における mPGES-1 の役割を明らかにするために、mPGES-1 欠損型マウスを用いて、野生型マウスとの比較検討を行った。mPGES-1 欠損型マウスは、通常に発育し、異常行動などは見られなかった。両遺伝子型マウスに急性拘束ストレスを負荷したところ、24 時間後に野生型マウス海馬で認められる COX-2 の発現増加が、欠損型マウスで低い傾向が見られた。PGE<sub>2</sub> 量については、野生型マウスでは、負荷直後、24 時間後共に、海馬、前頭皮質で増加の傾向が認められ、24 時間後の前頭皮質では、有意に増加していた。一方、mPGES-1 欠損型マウスでは、ストレスを負荷しない対照群でも、野生型マウスに比べて若干低い傾向があったが、ストレス負荷後に全く増加せず、海馬、前頭皮質共に野生型マウスに比べ有意に低値だった。

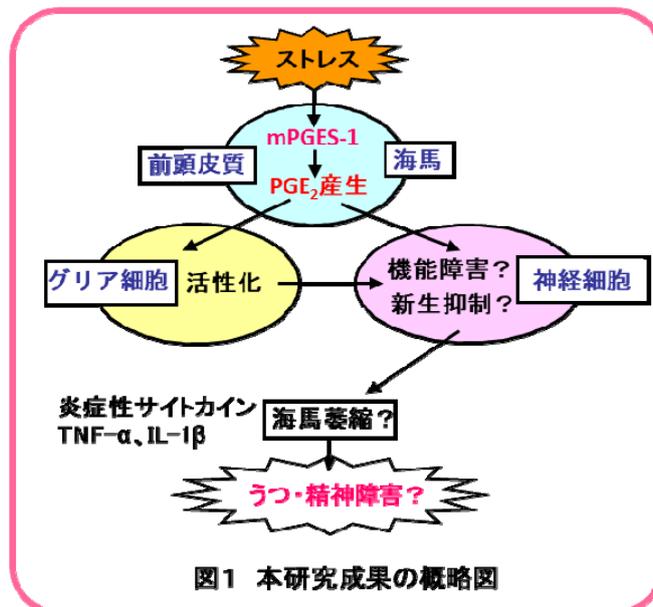
#### (4) mPGES-1 のグリア細胞活性化、炎症性サイトカイン発現

PGE<sub>2</sub> は炎症反応を促進的に調節することが、様々な組織にて知られている。ストレス後に脳内で増加した PGE<sub>2</sub> の炎症反応への役割を検討するため、グリア細胞の活性化について検討した。アストロサイトの活性化マーカーである GFAP の mRNA 発現量については、ストレス負荷による変化、遺伝子型間の違いは認められなかった。脳内免疫細胞として知られるミクログリアの活性化マーカー Iba-1 の発現量については、ストレス負荷直後には減少傾向があったが、24 時間後には海馬、前頭皮質共に、若干増加傾向があった。これに対し、mPGES-1 欠損型マウスでは、24 時間後の活性化が低い傾向があった。さらに、活性化ミクログリアが産生すると考えられる炎症性サイトカインの発現を検討した。TNF- $\alpha$  は、急性ストレス負荷 24 時間後の海馬、前頭皮質で増加の傾向があったが、mPGES-1 欠損型マウスではほとんど変化しなかった。IL-1 $\beta$  は海馬にて、ストレス負荷 24 時間後に増加する傾向があったが、mPGES-1 欠損型マウスではストレス負荷による大きな変動は見られなかった。

### 4. 考察・まとめ

慢性拘束ストレスモデルにおいては、mPGES-1 の誘導は生じなかったことから、2, 3 週間の弱いストレス負荷は体に耐性或いは慣れを生じさせ、脳炎症反応は生じにくいと考えられた。一方、急性拘束ストレスモデルにおいては、mPGES-1 と COX-2 の有意な増加が海馬で認められ、前頭皮質でもその傾向が見られ、PGE<sub>2</sub> 産生の増加も確認できたことから、急性拘束ストレスでは、強いストレスが急激に与えられたことで、脳内に炎症的な強い反応が生じたものと考えられた。野生型マウスで認められた PGE<sub>2</sub> 産生の増加が、mPGES-1 欠損型マウスでは消失したことから、急性ストレス後の PGE<sub>2</sub> 産生には mPGES-1 が必須であることが示唆された。さらに、ミクログリアの活性化と、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  といった炎症性サイトカインの発現が、野生型マウスに比べ mPGES-1 欠損型マウスで低い傾向が認められたことから、急性スト

レス後のmPGES-1発現誘導より生じる海馬、前頭皮質でのPGE<sub>2</sub>はミクログリアを活性化させ、炎症性サイトカインを産生させることが示唆された。今後さらに、神経機能やスパインなどの神経構造、うつ様症状などの行動学的変化について、野生型マウスとmPGES-1欠損型マウスで比較検討する必要がある。炎症性サイトカインは脳神経機能を抑制することが知られていることから、うつ様症状や記憶力低下などの症状発現に関与していると考えられ、ストレス後のmPGES-1誘導によるPGE<sub>2</sub>産生は、これらの症状発現に寄与すると考えられる(図1)。従って、mPGES-1は、急性ストレスによる精神疾患の、新たなターゲットとなる可能性が期待される。



## 5. 参考文献

1. Ikeda-Matsuo Y, Tanji H, Narumiya S, Sasaki Y. Inhibition of prostaglandin E<sub>2</sub> EP3 receptors improves stroke injury via anti-inflammatory and anti-apoptotic mechanisms. *J Neuroimmunol* 2011;238:34-43
2. Ikeda-Matsuo Y, Tanji H, Ota A, Hirayama Y, Uematsu S, Akira S, Sasaki Y. Microsomal prostaglandin E synthase-1 contributes to ischaemic excitotoxicity through prostaglandin EP<sub>3</sub> receptors. *Br J Pharmacol* 2010;160:847-859
3. Ikeda-Matsuo Y. Microsomal prostaglandin E synthase-1 is involved in the brain ischemic injury. *Inflammation and Regeneration* 2010;30:26-33
4. Ikeda-Matsuo Y, Hirayama Y, Ota A, Uematsu S, Akira S, Sasaki Y. Microsomal prostaglandin E synthase-1 and cyclooxygenase-2 are both required for ischaemic excitotoxicity. *Br J Pharmacol* 2010;159:1174-1186
5. Ikeda-Matsuo Y, Ota A, Fukada T, Uematsu S, Akira S, Sasaki Y. Microsomal prostaglandin E synthase-1 is a critical factor of stroke-reperfusion injury. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103:11790-11795
6. Ikeda-Matsuo Y, Ikegaya Y, Matsuki N, Uematsu S, Akira S, Sasaki Y. Microglia-specific expression of microsomal prostaglandin E<sub>2</sub> synthase-1 contributes to lipopolysaccharide-induced prostaglandin E<sub>2</sub> production. *J Neurochem* 2005;94:1546-1558