

## うつ病の病態における Keap1-Nrf2 系の役割と予防薬としての Nrf2 化合物

張 継春, 姚 偉, 任 乾, 楊 春, 馬 敏, 董 超, 韓 玫, 吳 勁, 橋本謙二

千葉大学社会精神保健教育研究センター 病態解析研究部門

### 【研究の背景】

近年、炎症がうつ病の病態に深く関わっていることが判ってきた。例えば、未治療のうつ病患者の血液中では、炎症性サイトカイン濃度の増加が報告されており、抗うつ薬の投与によるうつ症状の改善に伴い、炎症性サイトカイン濃度の低下が確認されている(1)。また、現在使用されている抗うつ薬には、抗炎症作用を有する薬剤があることも報告されている(2)。例えば、マウスなどの実験動物に炎症を惹起する化合物 lipopolysaccharide (LPS) を投与すると、うつ症状を引き起こすことが知られていることから、うつ病の動物モデルとして使用されている(3-5)。

一方、脳由来神経栄養因子(BDNF)およびその受容体 TrkB は、うつ病の病態だけでなく、抗うつ効果の治療メカニズムに重要な役割を果たしていることが知られている(5-7)。最近我々は、うつ病の炎症モデル、社会的敗北ストレスモデル、学習性無力モデルの脳では、前頭皮質、海馬では BDNF が減少し、逆に側坐核では増加していることを報告した(5-8)。このように、うつ病の脳では、部位によって BDNF の変化が異なる可能性を示唆している。

近年、栄養学的観点から精神疾患の予防・治療に関する研究が注目されている。最近我々は、ブロッコリースプラウトなどの緑用野菜に含まれる Sulforaphane(SFN)が、フェンサイクリジン(PCP)投与による認知機能障害、酸化ストレスやバルブアルブミン陽性細胞の低下を予防することを報告した(9)。

### 【目 的】

多くの研究から、炎症および酸化ストレスが、うつ病などの精神疾患の病態に関わっており、抗酸化作用および抗炎症作用を有する化合物が新しい予防薬・治療薬として期待されている。一方、転写因子である Nrf2 は Keap1 と複合体を形成しており、生体内における抗酸化作用および抗炎症作用に深く関わっている。Nrf2 を活性化する化合物 SFN は、ブロッコリーなどに含まれている安全な化合物である。本研究の目的は、うつ病の予防薬としての SFN の可能性について調べる事である。

### 【方 法】

実験動物には、8 週齢の雄性 C57/B6 マウス(日本クレア株式会社)を使用した。まず最初に、リポポリサッカライド (LPS; 0.5 mg/kg) 投与 30 分前に、溶媒あるいは SFN (30 mg/kg) を投与し、LPS 投与 90 分後に血液を採取した。血液中の炎症性サイトカイン(TNF-alpha)濃度を測定した。行動試験は、LPS (0.5 mg/kg) 投与 30 分前に、溶媒あるいは SFN (3、10、30mg/kg) を投与し、LPS 投与 24 時間後、自発運動量、尾懸垂試験、強制水泳試験を実施した。別試験として、同様な試験を実施し、LPS 投与 24 時間後にマウス脳を取り出し、ウエスタンブロット解析およびゴルジ染色を行い、各部位(前頭皮質、海馬 CA3 と歯状回、側坐核)における BDNF、GluA1、PSD-95 およびスパイン密度の測定を行った。また、LPS 投与前の 3

週間 SFN を含む餌を与えた際、LPS 投与によるうつ症状が予防できるかを調べた。統計解析は、一元配置分散分析および二元配置分散分析で行った。

## 【結 果】

SFNの前投与は、LPS投与後の炎症性サイトカイン(TNF-alpha)濃度の増加およびうつ症状を有意に抑えた。マウスにLPS投与した結果、前頭皮質、海馬(CA3と歯状回)でBDNF、GluA1、PSD-95が有意に減少したが、CA1領域では変化無かった。一方、LPS投与マウスの側坐核では、BDNF、GluA1、PSD-95が有意に増加した。SFNの前投与は、LPS投与によるこれらのタンパクの変化を有意に抑えた。さらにLPS投与による前頭皮質、海馬(CA3と歯状回)におけるスパイン密度の減少および側坐核におけるスパイン密度の増加も、SFNの前投与で有意に抑えた。興味深いことに、SFNを含む餌を3週間食べさせると、LPSを投与しても、うつ症状を引き起こさなかった。

## 【考 察】

以上の結果から、LPS投与による炎症は、前頭皮質、海馬(CA3と歯状回)においてBDNF、GluA1、PSD-95やスパイン密度を減少させるが、側坐核では逆の作用を示すことが判った。SFNはLPS投与によるうつ症状だけでなく、組織化学的変化も予防することが判った。さらに、SFNはブロッコリー等に含まれる安全な化合物であるので、高濃度のSFNを含む食事(ブロッコリースプラウトなど)を摂取することにより、うつ病の発症を予防できる可能性がある。

## 【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究の結果より、うつ病の病態におけるKeap1-Nrf2系の役割が明らかになり、うつ病の新規治療ターゲットとしてのKeap1-Nrf2系の可能性が示唆された。このように、栄養学的視点から、うつ病患者の予防・治療が可能になっていく可能性があり、本研究の臨床的意義および臨床への貢献度は高いと思われる。

## 【引用文献】

- 1). Miller AH, Maletic V, Raison CL. Inflammation and its discontents: The role of cytokines in the pathophysiology of major depression. *Biol. Psychiatry* 65: 732-741, 2009.
- 2). Ohgi Y, Futamura T, Kikuchi T, Hashimoto K. Effects of antidepressants on alternations in serum cytokines and depressive-like behavior in mice after lipopolysaccharide administration. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 103: 856-859, 2013.
- 3). O'Connor JC, Lawson MA, André C, Moreau M, Lestage J, Castanon N, Kelley KW, Dantzer R. Lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior is mediated by indoleamine 2,3-dioxygenase activation in mice. *Mol. Psychiatry* 14: 511-522, 2009.
- 4). Dantzer R, O'Connor JC, Freund GG, Johnson RW, Kelly KW. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nature Rev Neurosci* 9: 46-57, 2008.
- 5). Zhang JC, Wu J, Fujita Y, Yao W, Ren Q, Yang C, Li SX, Shirayama Y, Hashimoto K. Antidepressant effects of TrkB ligands on depression-like behavior and dendritic changes in the hippocampus and nucleus accumbens after inflammation.

Int. J. Neuropsychopharmacol. 18: pyu077, 2015

- 6). Yang C, Shirayama Y, Zhang JC, Ren Q, Hashimoto K. Regional differences in brain-derived neurotrophic factor and dendritic spine density confer resilience to inescapable stress. Int. J. Neuropsychopharmacol. 18: pyu121, 2015.
- 7). Zhang JC, Yao W, Dong C, Yang C, Ren Q, Ma M, Han M, Hashimoto K. Comparison of ketamine, 7,8-dihydroxyflavone and ANA-12 antidepressant effects in the social defeat stress model of depression. Psychopharmacology 232: 4235-4235, 2015.
- 8). Shirayama Y, Yang C, Zhang JC, Ren Q, Yao W, Hashimoto K. Alterations in brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and its precursor proBDNF in the brain regions of a learned helplessness rat model and antidepressant effects of TrkB agonist and antagonist. Eur. Neuropsychopharmacol. 25, 2449-2458, 2015.
- 9). Shirai Y, Fujita Y, Hashimoto R, Ohi K, Yamamori H, Yasuda Y, Ishima T, Suganuma H, Ushida Y, Takeda M, Hashimoto K. Dietary intake of sulforaphane-rich broccoli sprout extracts during juvenile and adolescence can prevent phencyclidine-induced cognitive deficits at adulthood. PLoS One 10, e0127244.