

持続的な抗うつ作用をもたらす創薬標的の導出

永安一樹

京都大学大学院薬学研究科 生体機能解析学分野

【研究の背景】

うつ病などの精神疾患は、疾患負荷の大きな割合を占める重大な社会問題である。精神疾患の多くでは、快・不快や不安といった情動機能の障害が引き起こされていることから、情動の適切なレベルへの制御が、生体の恒常性を維持する上で極めて重要である。申請者はこれまでに、セロトニン神経特異的ウイルスベクターを開発し、光により神経活動を任意のタイミングで制御できる光遺伝学的手法と組み合わせることで、背側縫線核 (DRN) セロトニン神経の活性化のみで抗うつ薬と同様の行動学的変化が引き起こされることを見出してきた (Nishitani et al., 2019)。一方、この DRN セロトニン神経活性化による抗うつ薬様作用は、活性化を止めると即座に消失したことから、DRN セロトニン神経活動を恒常的に亢進させ得る創薬標的の導出の必要性が示唆されている。

【目 的】

本研究では、申請者が開発したセロトニン神経特異的ウイルスベクターを用いて、抗うつ薬様作用を司るセロトニン神経回路を同定するとともに、同定した抗うつセロトニン神経回路に特異的に発現する受容体を同定し、画期的抗うつ薬の創製に資する知見を得る。

【方 法】

実験には C57BL/6 雄性マウスを用いた。抗うつ薬様作用の評価は、尾懸垂試験および社会的敗北ストレス負荷後の社会的相互作用試験により行った。セロトニン神経特異的遺伝子発現には、マウス TPH2 遺伝子プロモーター下に目的遺伝子配列を組み込んだアデノ随伴ウイルス (AAV) を用いた (Nagai et al., 2020)。特定の神経から mRNA を単離濃縮する手法としては TRAP 法を用いた (Heiman et al., 2014)。

【結 果】

DRN セロトニン神経の光遺伝学的刺激を 10 回 (2 回/日) 繰り返し行うことで、持続的な抗うつ薬様作用が得られた。さらに神経回路選択的刺激を行ったところ、個体数が少なく予備的ではあるが、腹側被蓋野 (VTA) に投射するセロトニン神経を刺激することで、抗うつ傾向が見られた。

逆行性ウイルスを用いて VTA に投射するセロトニン神経の DRN 内分布を調べたところ、DRN 腹側部に多く存在することが明らかになった。そこで、DRN 腹側部に細胞種選択的 mRNA 単離に必要な EGFP-L10A を発現させたのち、社会的敗北ストレス負荷あるいは抗うつ薬 28 日間慢性投与を行った。その後、TRAP 法を用いて腹側 DRN セロトニン神経の網羅的遺伝子発現変動解析を行った。発現変動遺伝子のうち、S100a10 はストレス負荷でうつ様症状を呈したマウスにおいて発現が増加した一方、抗うつ薬慢性投与で発現が減少していた。

S100a10 のセロトニン神経特異的ノックダウンを行うため、セロトニン神経特異的に S100a10 を標的とする miRNA を発現させたのち、組織学的解析および行動学的解析を行った。組織学的解析の結果、miRNA 発現細胞で S100a10 発現の減少が

見られた。行動学的解析の結果、S100a10 ノックダウンマウスにおいて、行動量、不安様行動には影響を与えることなく、尾懸垂試験における無動時間の有意な減少、すなわち抗うつ薬様効果が引き起こされた。

【考 察】

これまでの研究から、S100a10 はセロトニン 1B 受容体に結合し、その膜上発現量を増加させることが示唆されている。また、セロトニン 1B 受容体は、セロトニン神経活動を抑制する自己受容体として作用する。これらを併せて考えると、S100a10 のノックダウンにより、抑制性のセロトニン 1B 自己受容体の膜上発現量が減少し、セロトニン神経活動が結果的に亢進することで、持続的な抗うつ薬様作用が引き起こされている可能性が考えられる。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

今後さらなる検討が必要であるが、S100a10 とセロトニン 1B 受容体の結合が、抗うつ薬の創薬標的として有望である可能性が示唆される。また、S100a10 以外にも、複数のイオンチャネル・酵素遺伝子が、抗うつ薬投与あるいは社会的敗北ストレスにより変化することを見出しているため、それら遺伝子についても解析を進めることで、抗うつ薬の創薬標的としての有用性を示していきたいと考える。

【参考・引用文献】

Heiman M, Kulicke R, Fenster RJ, Greengard P, Heintz N. Cell type-specific mRNA purification by translating ribosome affinity purification (TRAP). *Nat Protoc.* 2014;9(6):1282-1291.

Nagai Y, Takayama K, Nishitani N, et al. The role of dorsal raphe serotonin neurons in the balance between reward and aversion. *Int J Mol Sci.* 2020;21(6):1-17.

Nishitani N, Nagayasu K, Asaoka N, et al. Manipulation of dorsal raphe serotonergic neurons modulates active coping to inescapable stress and anxiety-related behaviors in mice and rats. *Neuropsychopharmacology.* 2019;44(4):721-732.