

2. ストレスによる内側前頭前皮質の炎症反応と行動変容： 自然免疫分子の役割

北岡 志保, 古屋敷智之

抄録：社会や環境から受けるストレスは精神疾患のリスク因子であり、げっ歯類のストレスモデルを用い、ストレスによる行動変化における分子機序の解明が進められている。急性および慢性ストレスによる内側前頭前皮質 (mPFC) の機能変化を分子レベルで解析し、その結果生じる行動変化を調べた。急性ストレスは中脳皮質ドーパミン系および興奮性神経細胞の D1 受容体を活性化しストレスによる社会忌避行動の誘導を抑制する。一方、反復ストレスは COX-1-PGE₂-EP1 経路を介して中脳皮質ドーパミン系を抑制し、社会忌避行動を誘導する。さらに、慢性ストレスは Toll 様受容体の活性化を介して mPFC ミクログリアを活性化し、活性化ミクログリアから放出される炎症性サイトカイン IL-1 α および TNF α が社会忌避行動を誘導する。このように、慢性ストレスはミクログリアを起点とする脳内炎症を誘導し、ストレスによる行動変化を誘導する。

日本生物学的精神医学会誌 31 (4) : 170-173, 2020

Key words : ストレス, 内側前頭前皮質, ドーパミン, ミクログリア, 炎症, 自然免疫分子

はじめに

既存の抗うつ薬の薬理作用から、うつ病におけるモノアミン仮説が長らく注目されてきた。しかし、既存の抗うつ薬では奏功しないうつ病患者がいることから、新たな創薬標的の開発が期待されている。うつ病患者の末梢血中で炎症関連物質が増加していることや慢性炎症性疾患患者でうつ病の併発率が高いことなどから、うつ病における「炎症仮説」が注目されるようになった。

社会や環境から受けるストレスは精神疾患のリスク因子であることから、動物に繰り返しストレスを与える慢性ストレスモデルがうつ病の動物モデルとして用いられている。慢性ストレスモデルの一つである反復社会挫折ストレスモデルでは、慢性ストレスにより社会忌避行動や快感の消失が誘導され、これらの行動変化は抗うつ薬の慢性投与により改善する²⁾。また、慢性ストレスは末梢血中の炎症性サイトカインを上昇させることも報告されている⁵⁾。本稿では、ストレスによる情動変容における内側前頭前皮質ドーパミンの役割と炎症関連物質の役割について最新の知見を紹介する。

1. ストレスによる情動変容における 内側前頭前皮質ドーパミン系の役割

電気ショックを動物に与えると内側前頭前皮質 (medial prefrontal cortex ; mPFC) でドーパミン放出が増加することが知られている¹²⁾。反復社会挫折ストレスは社会忌避行動を誘導するが、単回の社会挫折ストレスは社会忌避行動を誘導しないことから、急性および慢性ストレス後の mPFC でのドーパミン代謝回転について検討した。その結果、単回の社会挫折ストレスを与えた動物で mPFC のドーパミン代謝回転が増加し、反復社会挫折ストレスを与えた動物では mPFC のドーパミン代謝回転が増加しなかった¹³⁾。これらの結果は、単回ストレスは中脳皮質ドーパミン系を活性化し社会忌避行動の誘導を抑制すること、反復ストレスは中脳皮質ドーパミン系を抑制し社会忌避行動を誘導することを示唆する。実際に、mPFC のドーパミン神経終末の傷害は社会忌避行動の誘導を促進したことから、中脳皮質ドーパミン系の抑制が反復ストレスによる社会忌避行動の誘導に必須であることが示された。さらに、単回ストレスによる中脳皮質ドーパミン系の活性化

The roles of innate immune molecules in stress-induced inflammation response and behavioral changes

* 神戸大学大学院医学研究科薬理学分野 (〒 650-0017 神戸市中央区楠町 7-5-1) Shiho Kitaoka, Tomoyuki Furuyashiki : Kobe University Graduate School of Medicine, Division of pharmacology. 7-5-1, Kusunokicho, Chuo-ku, Kobe 650-0017, Japan)

【北岡 志保 E-mail : skitaoka@med.kobe-u.ac.jp】

は社会忌避行動の誘導を抑制することから、ストレス抵抗性に関与するドーパミン受容体について検討した。ドーパミン受容体には D1, D2, D3, D4, D5 の 5 つのサブタイプが存在するが、定量的 RT-PCR により mPFC での発現を検出した受容体は D1, D2, D4, D5 であり、反復ストレスは D1 受容体の発現を低下した¹¹⁾。そこで、mPFC 神経細胞で D1 受容体のノックダウンを行ったところ、単回ストレスにより社会忌避行動が誘導された。D1 受容体の発現細胞種を同定するため、興奮性または抑制性の神経細胞選択的に D1 受容体のノックダウンを行った結果、興奮性神経細胞選択的に D1 受容体をノックダウンしたマウスでのみ単回ストレスによる社会忌避行動が誘導された。これらの結果は、単回ストレスによる中脳皮質ドーパミン系の活性化により放出されたドーパミンは mPFC 興奮性神経細胞に発現する D1 受容体に作用し社会忌避行動の誘導を抑制することを示す。このように急性ストレスに対するストレス抵抗性の分子機序の一端が明らかになった。

また、筆者らは、ストレスによる情動変容に炎症が関与する可能性に着目し、解析してきた。炎症性メディエーターであるプロスタグランジン E₂ (prostaglandin E₂: PGE₂) がうつ病患者の末梢血で高値を示すことから、PG 産生に必須の酵素であるシクロオキシゲナーゼ (cyclooxygenase: COX) がストレスによる情動変容に関与する可能性を検討した。COX には COX-1 と COX-2 の二種類のアイソフォームが存在することから、COX-1 および COX-2 の薬理的阻害や遺伝子欠損が反復社会挫折ストレスによる社会忌避行動の誘導に及ぼす影響を調べた。COX-1 阻害薬である SC-560 や COX-1 欠損は慢性ストレスによる社会忌避行動の誘導を抑制した。脳内で COX-1 はミクログリアに COX-2 は皮質領域の神経細胞に発現する。これらの結果は、反復社会挫折ストレスによる社会忌避行動の誘導に COX-1 が必須であること、また、ストレスによる行動変化へのミクログリアの関与を示している。PGE 受容体には EP1, EP2, EP3, EP4 があり、反復社会挫折ストレスによる社会忌避行動の誘導に関与する受容体を調べた。4 種類の受容体欠損マウスのうち、EP1 欠損マウスで反復社会挫折ストレスによる社会忌避行動の誘導が消失した。そこで、EP1 欠損マウスの mPFC で単回および反復ストレス後のドーパミン代謝回転を調べたところ、反復ストレスによる中脳皮質ドーパミン系の抑制が EP1 欠損マウスで消失していた。中脳皮質ドーパミン系

の脱抑制が EP1 欠損マウスでの社会忌避行動の消失の原因であることを調べるため、ドーパミン D1 受容体拮抗薬を EP1 欠損マウスに投与したところ、反復ストレスによる社会忌避行動が誘導された。EP1 は中脳ドーパミン神経細胞に投射する抑制性神経細胞の前シナプスに局在し、GABA 放出を促進する¹⁴⁾。これらの結果は、反復ストレスによる中脳皮質ドーパミン系の抑制が社会忌避行動を誘導することを示す。

2. ストレスによる情動変容における内側前頭前皮質の Toll 様受容体の役割

うつ病患者の前頭前皮質でミクログリアの活性化が報告されている¹⁰⁾。そこで、反復ストレスが mPFC で発現誘導する遺伝子を網羅的に調べた。反復ストレスは S100A8, S100A9 の遺伝子発現を顕著に増加した。これらの分子はヘテロ二量体を形成し Toll 様受容体 (Toll-like receptor: TLR) 4 を活性化することや S100A8/A9 のヘテロ二量体による炎症反応の誘導が TLR2 に依存することが報告されている^{3, 15)}。そこで、TLR2 または TLR4 欠損マウスを反復社会挫折ストレスに供したところ、どちらのマウスも社会忌避行動を示した。TLR2 と TLR4 との機能的重複を考え、TLR2/4 二重欠損マウスを反復社会挫折ストレスに供したところ社会忌避行動の誘導が消失した⁸⁾。これらの結果は反復ストレスによる社会忌避行動の誘導に TLR2/4 が必須であることを示している。TLR2 および TLR4 はミクログリアに高発現することから、ストレスによるミクログリアの活性化とミクログリアの活性化における TLR2/4 の関与について検討した。ミクログリアの活性化の指標として CD68 を用いたところ、反復ストレスは mPFC ミクログリアを活性化し、TLR2/4 二重欠損マウスの mPFC ではミクログリアは活性化しなかった。また、側坐核 (nucleus accumbens; NAc) ミクログリアについても検討したところ、単回ストレス、反復ストレスともにミクログリアは活性化しなかった。これらの結果は、反復ストレスによるミクログリアの活性化には脳領域選択性があり、mPFC ミクログリアの活性化は TLR2/4 に依存することを示す。mPFC ミクログリアの TLR2/4 が反復ストレスによる社会忌避行動の誘導に重要であることを検討するため、CX3CR1-CreERT マウスの mPFC に TLR2/4 に対する microRNA を発現するレンチウイルスを局所投与した。その結果、mPFC ミクログリアで TLR2/4 をノックダウンしたマウス

では反復ストレスによる社会忌避行動が誘導されなかった。さらに、活性化ミクログリアから放出されるサイトカインまたはケモカインを調べるため、野生型マウスおよびTLR2/4 二重欠損マウスから mPFC ミクログリアと NAc ミクログリアを単離し、網羅的遺伝子発現解析を行った。その結果、mPFC ミクログリアで TLR2/4 依存的に IL-1 α および TNF α の発現が増加した。これらの炎症性サイトカインに対する中和抗体の mPFC への局所投与は反復ストレスによる社会忌避行動の誘導を抑制した。以上の結果は、反復ストレスは TLR2/4 を介して mPFC ミクログリアを活性化し、活性化ミクログリアから放出される IL-1 α および TNF α が社会忌避行動の誘導に関与することを示す。

3. ストレスによる PGE₂ 産生における TLR2/4 の役割

前述の通り、反復ストレスは COX-1-PGE₂-EP1 を介して中脳皮質ドーパミン系を抑制する。そこで、ストレスによる PGE₂ 産生の分子機序を調べた。大脳および海馬を含む皮質領域とその他の皮質下領域に分けて解析したところ、単回および反復ストレスによる PGE₂ 産生は皮質下領域選択的であることが示された⁷⁾。これらの PGE₂ 産生は TLR2/4 二重欠損マウスで減少することから、ストレスによる皮質下領域の PGE₂ 産生は TLR2/4 に依存することが示された。一般的に PGE₂ の前駆物質であるアラキドン酸は、細胞質型ホスホリパーゼ A_{2 α} の作用により細胞膜から遊離される。近年、脳内では、2-アラキドノイルグリセロールにモノアシルグリセロールリパーゼ (monoacyl glycerol lipase : MAGL) が作用し遊離アラキドン酸が供給されることが示されている⁹⁾。そこで、MAGL 阻害薬である JZL184 を投与したところ、反復ストレスによる皮質下領域での PGE₂ 産生および社会忌避行動の誘導が抑制された。ストレスによる PGE₂ 産生に TLR2/4 が関与するメカニズムに迫るため、MAGL と COX-1 の発現量を調べた。その結果、TLR2/4 二重欠損マウスの皮質下領域で MAGL と COX-1 の発現量が減少していた。これらの結果は、反復ストレスが皮質下領域で TLR2/4-MAGL-COX-1 経路による PGE₂ 産生を増強することを示唆している。この経路により産生された PGE₂ は EP1 受容体を介して中脳皮質ドーパミン系を抑制し、社会忌避行動を誘導すると考えられる。

おわりに

急性ストレスは中脳皮質ドーパミン系を活性化し、放出されたドーパミンは mPFC 興奮性神経細胞の D1 受容体に作用し、社会忌避行動の誘導を抑制する。一方、反復ストレスは COX-1-PGE₂-EP1 経路により中脳皮質ドーパミン系を抑制し、社会忌避行動を誘導する。また、ストレスによる PGE₂ 産生は TLR2/4 に依存する。さらに、慢性ストレスは TLR2/4 を介して mPFC ミクログリアを活性化し、活性化ミクログリアから放出される炎症性サイトカイン IL-1 α および TNF α が社会忌避行動の誘導に関与する。このように、ストレスは異なる脳領域でミクログリアを起点とする TLR2/4 依存的な脳内炎症を誘導する。しかし、各脳領域でストレスにより放出される TLR2/4 の内因性リガンドや内因性リガンドの産生細胞種や放出機構は不明である。また、活性化ミクログリアから放出される炎症性サイトカインの作用点も不明である。活性化ミクログリア由来の IL-1 α および TNF α は神経細胞傷害性アストロサイトを分化誘導するほか⁶⁾、神経細胞に発現するサイトカイン受容体が社会行動や不安行動に関与することが報告されている^{1, 4)}。ストレスによる脳内炎症を担う分子機序および神経回路基盤の解明が、ストレスを標的とした精神疾患創薬に繋がることが期待される。

利益相反：開示すべき利益相反は存在しない。

文 献

- 1) Alves de Lima K, Rustenhoven J, Da Mesquita S, et al (2020) Meningeal $\gamma\delta$ T cells regulate anxiety-like behavior via IL-17a signaling in neurons. *Nat Immunol*, 21 : 1421-1429.
- 2) Berton O, McClung CA, Dileone RJ, et al (2006) Essential role of BDNF in the mesolimbic dopamine pathway in social defeat stress. *Science*, 311 : 864-868.
- 3) Coveney AP, Wang W, Kelly J, et al (2015) Myeloid-related protein 8 induces self-tolerance and cross-tolerance to bacterial infection via TLR4- and TLR2-mediated signal pathways. *Sci Rep*, 5 : 13694.
- 4) Filiano AJ, Xu Y, Tustison NJ, et al (2016) Unexpected role of interferon- γ in regulating neuronal connectivity and social behaviour. *Nature*, 535 : 425-429.
- 5) Hodes GE, Pfau ML, Leboeuf M, et al (2014) Individual differences in the peripheral immune system

- promote resilience versus susceptibility to social stress. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 111 : 16136–16141.
- 6) Liddelow SA, Guttenplan KA, Clarke LE, et al (2017) Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia. *Nature*, 541 : 481–487.
 - 7) Nie X, Kitaoka S, Shinohara M, et al (2019) Roles of Toll-like receptor 2/4, monoacylglycerol lipase, and cyclooxygenase in social defeat stress-induced prostaglandin E2 synthesis in the brain and their behavioral relevance. *Sci Rep*, 9 : 17548.
 - 8) Nie X, Kitaoka S, Tanaka K, et al (2018) The Innate Immune Receptors TLR2/4 Mediate Repeated Social Defeat Stress-Induced Social Avoidance through Prefrontal Microglial Activation. *Neuron*, 99 : 464–479.
 - 9) Nomura DK, Morrison BE, Blankman JL, et al. (2011) Endocannabinoid hydrolysis generates brain prostaglandins that promote neuroinflammation. *Science*, 334 : 809–813.
 - 10) Setiawan E, Wilson AA, Mizrahi R, et al (2015) Role of translocator protein density, a marker of neuroinflammation, in the brain during major depressive episodes. *JAMA Psychiatry*, 72 : 268–275.
 - 11) Shinohara R, Taniguchi M, Ehrlich AT, et al (2018) Dopamine D1 receptor subtype mediates acute stress-induced dendritic growth in excitatory neurons of the medial prefrontal cortex and contributes to suppression of stress susceptibility in mice. *Mol Psychiatry*, 23 : 1717–1730.
 - 12) Sorg BA and Kalivas PW (1993) Effects of Cocaine and Footshock Stress on Extracellular Dopamine Levels in the Medial Prefrontal Cortex. *Neuroscience*, 53 : 695–703.
 - 13) Tanaka K, Furuyashiki T, Kitaoka S, et al (2012) Prostaglandin E2-mediated attenuation of mesocortical dopaminergic pathway is critical for susceptibility to repeated social defeat stress in mice. *J Neurosci*, 32 : 4319–29.
 - 14) Tanaka Y, Furuyashiki T, Momiyama T, et al (2009) Prostaglandin E receptor EP1 enhances GABA-mediated inhibition of dopaminergic neurons in the substantia nigra pars compacta and regulates dopamine level in the dorsal striatum. *Eur J Neurosci*, 30 : 2338–2246.
 - 15) Vogl T, Tenbrock K, Ludwig S, et al (2007) Mrp8 and Mrp14 are endogenous activators of Toll-like receptor 4, promoting lethal, endotoxin-induced shock. *Nat Med*, 13 : 1042–1049.

■ ABSTRACT

The roles of innate immune molecules in stress-induced inflammation response and behavioral changes

Shiho Kitaoka, Tomoyuki Furuyashiki

Kobe University Graduate School of Medicine, Division of pharmacology

Social and environmental stress is a risk factor for mental illnesses. Therefore, the molecular bases of stress-induced behavioral changes have been studied using various rodent stress model. Authors examined the molecular changes which are induced in the medial prefrontal cortex (mPFC) by acute and chronic stress and their behavioral consequences. Acute stress activates mesocortical dopaminergic pathway and dopamine D1 receptor located in excitatory neurons in mPFC, which suppressed the induction of social avoidance through. Chronic stress suppressed mesocortical dopaminergic pathway via COX-1-PGE₂-EP1, which induces social avoidance. Additionally, chronic stress activates mPFC microglia via Toll-like receptor 2 and 4, and activated microglia releases proinflammatory cytokines, namely IL-1 α and TNF α , which induces social avoidance. These results revealed that chronic stress induces neuroinflammation which is derived from microglia, leading to stress-induced behavioral changes. Authors have no potential conflicts of interest to be disclosed.

(Japanese Journal of Biological Psychiatry 31 (4) : 170–173, 2020)
