

学位論文審査の要旨

うつ病の治療は、現在、抗うつ薬を主体とした薬物療法が行われている。しかしながら、抗うつ薬が有効でない症例が数多く報告されており、既存の薬物療法だけでは十分とは言えないのが現状である。近年、うつ病患者では血中のビタミン量や脂肪酸量が低いことが報告されるなど、うつ病の発症に食・栄養の関与が指摘されている。なかでもビタミン B 群の一つである葉酸は、その体内量とうつ症状との間に高い相関性がみられることが疫学調査により明らかにされており、葉酸欠乏がうつ病のリスクファクターとなる可能性が示されている。しかしながら、葉酸欠乏によるうつ症状の発症機序については不明である。申請者は、葉酸欠乏によるうつ症状の発症機序の解明を目的として、マウスを用いて、葉酸欠乏によるうつ様行動と海馬歯状回における神経新生とエピゲノム修飾への影響について検討し、海馬歯状回の新生ニューロンの成熟異常が葉酸欠乏によるうつ症状の発症機序の一端である可能性を見出した。以下に本学位論文の審査結果を示す。

申請者は、葉酸欠乏飼料を 6 週間与えて作製した葉酸欠乏マウスにおいて、強制水泳試験により無動時間の増加がみられたことから、葉酸欠乏によりうつ様症状が発症することを示した。本マウスの海馬歯状回の免疫組織化学染色により、神経系前駆細胞数に変動はないが、未熟ニューロン数の増加と新生成熟ニューロン数の減少がみられたことから、葉酸欠乏により海馬歯状回において新生ニューロンの成熟化の抑制が生じていることが推察された。また、ゴルジ染色法による形態学的解析から、葉酸欠乏マウスの海馬歯状回では神経細胞の樹状突起の長さや分岐数が低下し、スパイン密度や成熟スパイン数も減少していることを見出した。さらに葉酸欠乏マウスの海馬歯状回においてストレス負荷による c-Fos 陽性細胞数の増加が抑制されていることを示し、ストレス応答性の神経活動が低下していることが推察された。

次に申請者は、マウス胎仔脳からニューロスフェア法により調製した培養神経幹細胞を葉酸欠乏培地で 7 日間培養し、遺伝子発現・エピゲノム修飾への葉酸欠乏の影響を検討した。その結果、MAP2 陽性細胞数の有意な減少が観察され、本培養系においても葉酸欠乏により新生ニューロンの成熟異常が生じていることを示した。さらに本培養系においてニューロンの分化・成熟に関連する各遺伝子の mRNA 発現量を解析した。その結果、葉酸欠乏条件下では神経幹細胞の増殖・維持に関与する遺伝子である *Pax6*、*Nrsf*、*Stat3*、*Hey1* およびニューロンの

成熟に関与する遺伝子である *Mib1*, *Creb1*, *Neurod1* の mRNA 発現量が減少し、神経系前駆細胞からニューロンへの分化に関与する遺伝子である *Neurog1*, *Eomes* の mRNA 発現量が増加していることを明らかにした。また、葉酸欠乏条件下において培養神経幹細胞の全ゲノム中においてメチル化シトシン量およびヒストン H3 の 27 番目のリジンのトリメチル化量の減少が起こっていることを明らかにした。また、葉酸欠乏により発現変動がみられた *Neurog1* と *Eomes* では、メチル化シトシン量が有意に減少していることを明らかにした。このことより、葉酸欠乏による新生ニューロンの成熟異常に DNA の低メチル化に起因するニューロン分化・成熟関連遺伝子の発現変動が関与することが推察された。

次に申請者は、葉酸欠乏マウスでみられた新生ニューロンの成熟異常とうつ様行動に対してメチル基供与体である S-アデノシルメチオニン (SAM) が改善効果を示すか否かについて検討した。その結果、海馬歯状回での新生成熟ニューロン数の減少、未熟ニューロン数の増加、ニューロンの形態的異常およびストレス負荷時の神経活動の低下が SAM の腹腔内投与により改善することを示し、SAM の不足が葉酸欠乏によるニューロンの成熟異常に関与することが推察された。さらに葉酸欠乏マウスの海馬歯状回においても、葉酸欠乏条件下での培養神経幹細胞と同様な遺伝子発現変動が起こっていることを確認し、これらの発現変動も SAM 投与により対照群と同程度の発現レベルに改善されることを示した。これらの結果から、葉酸欠乏により SAM の生合成量が減少し、ニューロンの成熟に必要な DNA のメチル化が十分に生じないことで、ニューロン分化・成熟関連遺伝子の正常な発現が起こらず、海馬歯状回の新生ニューロンの成熟が抑制された可能性が推察された。

以上、本申請者は、海馬歯状回における新生ニューロンの成熟異常が葉酸欠乏によるうつ症状の発症機序の一端である可能性を見出した。本研究は、うつ症状の発症における葉酸の重要性を示唆するものであり、葉酸の適切な量の摂取がうつ病の予防や治療につながることを期待される。

以上の観点から、本論文は博士 (薬学) の学位論文としてふさわしいものであると判断された。