

様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

科学研究費助成事業 研究成果報告書



令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：32403

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K07348

研究課題名（和文）うつ様症状に対するクルクミン誘導体CUD003の予防・改善効果に関する基礎研究

研究課題名（英文）Preventive/Ameliorative Effects of Curcumin Derivative CUD003 on Depression-like behavior

研究代表者

松崎 広和（Matsuzaki, Hirokazu）

城西大学・薬学部・助教

研究者番号：80582238

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000 円

研究成果の概要（和文）：うつ病は誰もが罹患する可能性のある精神疾患であり、その予防法および有効な治療薬が求められている。本研究では、クルクミン誘導体CUD003のLPS誘発うつ様行動に対する予防効果について検討した。CUD003の連続予防投与は、LPS投与によるうつ様行動発現を有意に抑制した。その効果はCurよりも低濃度で認められた。また、LPSによる血中の炎症性サイトカイン濃度（IL-1 β およびTNF- α ）の上昇を、CUD003は有意に抑制した。以上の結果より、CUD003は、連続予防投与することでCurよりも強くうつ様症状発症を予防すること、それには炎症反応の抑制が関与することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

うつ病は様々な病因仮説が提唱されているが、近年、うつ病の病因にもサイトカインや免疫細胞が関与しているとする「神経炎症仮説」が注目されている。本研究では、抗酸化作用や抗炎症作用など多くの生物活性を有するクルクミンをリード化合物として合成したクルクミン誘導体CUD003の予防的投与により、うつ様症状の発症を予防（軽減）することができる可能性が示された。本研究によって得られた知見により、将来的に薬物によってうつ病の発症を予防するという予防的薬物療法の可能性を提唱出来るのではないかと考えている。

研究成果の概要（英文）：In this study, we investigated the possible mechanism of the preventive effect of CUD003 on depression-like behaviors induced by LPS in mice. Male BALB/c mice were orally pretreated with Curcumin or CUD003 for 5 days before single intraperitoneal administration of LPS (0.5 mg/kg). Plasma interleukin (IL)-1 β and tumor necrosis factor (TNF)- α levels were evaluated. Furthermore, reactive oxygen species (ROS) level in the hippocampal CA1 region was assessed. Our results showed that CUD003 prevented depressive-like behavior induced by LPS. Moreover, proinflammatory cytokine levels increased in the plasma and enhanced oxidative stress with elevated levels of ROS in the hippocampus 24 h after LPS administration. Pretreatment with CUD003 suppressed all these changes. These results suggest that the mechanism of the preventive effect of CUD003 on LPS-induced depressive-like behavior in mice is related to the suppression of inflammatory cytokines and the reduction of oxidative stress.

研究分野：神経薬理学

キーワード：クルクミン誘導体 抗うつ作用 抗炎症作用 抗酸化作用 神経炎症仮説 炎症性サイトカイン 行動薬理 予防効果

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

うつ病の患者数は年々増加の一途をたどっており、厚生労働省の患者調査によると、平成 29 年度にうつ病や躁うつ病などの気分障害で医療機関を受診した患者数は 128 万人にのぼる。医療費の増大のみならず、労働者の休職・離職の原因の一つになっていることから、社会経済的損失も甚大であり、重大な社会問題として対策が必要とされている。現在わが国で使用可能な抗うつ薬は、三環系抗うつ薬、選択的セロトニン再取り込み阻害薬、セロトニン・ノルアドレナリン再取り込み阻害薬、ノルアドレナリン作動性・特異的セロトニン作動性抗うつ薬など、シナプス間隙のモノアミン濃度を上昇させる「モノアミン仮説」に基づく薬物であるが、これらの薬物は副作用が多く、反応率は 6 割程度、寛解率も 3 割ほどであることから、有効性の高い新規抗うつ薬の開発が望まれている。

うつ病患者では、血中の TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 などの炎症性サイトカインや CRP 値の上昇、単球や好中球の増加、体内酸化ストレスの増大が見られ、これらがうつ状態の改善と共に正常化することが報告されている。また、ストレス負荷によりうつ病様行動を示すモデル動物においても、脳内酸化ストレスの増大が生じること、脳内ミクログリアの活性化による IL-1 β の上昇、神経新生の抑制が見られ、IL-1 β の中和抗体の投与によってこれらの変化が改善することなどから、近年、うつ病の病因にもサイトカインや免疫細胞が関与しているとする「神経炎症仮説」が注目されている。非ステロイド系抗炎症薬が抗うつ効果を示すとの報告や抗うつ薬との併用で抗うつ効果が増強するという報告もある一方、併用で作用が減弱するという報告もあり、一般的な抗炎症薬の抗うつ効果は、臨床応用が可能なほど顕著ではないと思われる。

これまでに申請者らの研究グループは、新規クルクミン誘導体の一つである CUD003 が、実験動物の行動学的評価により、強い抗うつ作用を示すことを明らかとしている。CUD003 は、培養細胞を用いた検討により、細胞毒性が弱いこと、酸化ストレスや炎症誘発性細胞死に対して強い抑制効果を示すデータが得られているが、詳細な薬理作用やそのメカニズムは明らかではない。クルクミン (Cur) は抗酸化作用や抗炎症作用など多くの生物活性を有し、毒性が低く、安全性も高い健康食品成分として古くから知られており、モノアミンオキシダーゼ阻害による 5-HT やドパミン量の増加、NMDA 受容体 GluN2A サブユニットの阻害作用、海馬や前頭皮質における神経新生の増強などの様々な薬理作用を介して抗うつ作用を示すことが報告されているため、CUD003 の抗うつ効果にもこれと類似した複数のメカニズムが関与している可能性がある。精神的ストレスにより脳内で炎症が引き起こされ、神経の萎縮や神経突起の減少が起こる「神経炎症仮説」がうつ病発症に大きく関与していれば、毒性が低く、炎症性細胞障害に対して強い保護効果を示す CUD003 は、うつ病発症の予防にも優れた作用を示す可能性が考えられる。

2. 研究の目的

クルクミン誘導体 CUD003 の予防的投与は、うつ病の発症を予防・軽減することが出来るのか、またどのようなメカニズムでその効果を発揮しているかを解明することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) LPS 誘発うつ様モデルマウスの作製 (条件検討)

マウスの種類 (ICR、BALB/c)、LPS のセロタイプ (O-111 : B4、O-127 : B8) および LPS 濃度 (0.5 mg/kg、0.83 mg/kg) から、再現度の高いうつ様行動を示す条件を検討した。LPS を単回腹腔内投与 24 時間後に、行動量の測定をオープンフィールド試験 (OFT) で、うつ様行動は尾懸垂試験 (TST) における無動時間を指標して評価した。

(2) LPS 誘発うつ様行動に対する CUD003 の効果の検討

CUD003 の投与タイミングを変えることで、単回投与による予防効果、連続投与による予防効果、単回投与による治療効果、に対する CUD003 の効果を検討した。行動学的評価は、LPS 投与 24 時間後にショ糖嗜好度試験 (SPT)、OFT、TST、強制水泳試験 (FST)、スクロースブラッシュ試験 (SST) により行った。

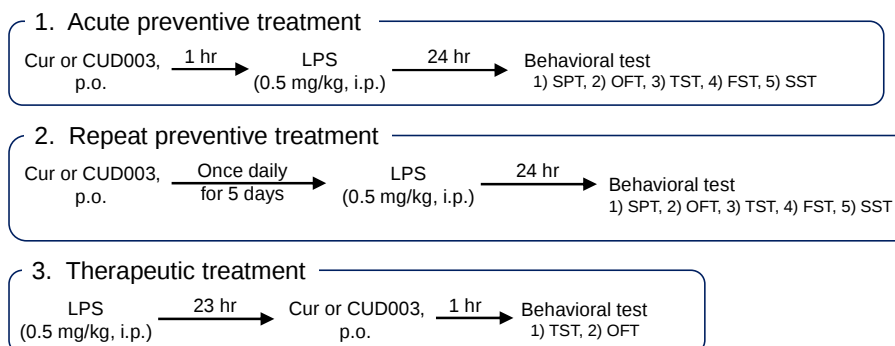


Fig. 1 CUD003 の投与スケジュール

(3) LPS 誘発炎症反応および酸化ストレスに対する CUD003 連続予防投与の効果の検討
上記(2)-の行動試験終了後に血漿サンプルおよび脳サンプルを採取し、血漿中炎症性サイトカイン濃度を ELISA 法にて、海馬の酸化ストレスを DHE 染色により評価した。

4. 研究成果

(1) LPS 誘発うつ様モデルマウスの検討

ICR マウスに 0.83 mg/kg LPS (O-111 および O-127) を単回腹腔内投与 24 時間後に TST を行ったところ、無動時間は増加する傾向を示した。OFT における行動量に変化は見られなかった。

BALB/c マウスに 0.83 mg/kg LPS (O-111 および O-127) を単回腹腔内投与したところ、24 時間以内に死亡してしまう個体が確認された。LPS 投与 24 時間後の OFT における行動量は減少傾向を、TST における無動時間は増加傾向を示した。一方、0.5 mg/kg LPS (O-111 および O-127) の単回腹腔内投与 24 時間後、OFT における行動量は変化が見られなかった。TST における無動時間は LPS (O-127) 群で有意に延長した。

以上の結果より、BALB/c マウスに 0.5 mg/kg LPS (serotype O-127:B8) を単回腹腔内投与 24 時間後にうつ様行動を示すことが確認出来たため、以降の実験はこの条件で行った。

(2) LPS 誘発うつ様行動に対する CUD003 の効果

CUD003 の単回予防投与

LPS 投与 24 時間後の体重は約 10%減少した。Cur および CUD003 を単回予防投与した群も LPS 群と同様の値であった (Table 1)。Cont 群と比較して LPS 群では SPT におけるスクロース選択性の有意な低下が認められた。Cur 群および CUD003 群は LPS 群と同等の値であった (Fig. 2A)。OFT における行動量に各群間に差は認められなかった (Fig. 2B)。Cont 群と比較して LPS 群では FST および TST における無動時間が有意に増加し、Cur 群、CUD003 群でその増加が軽減する傾向が見られた (Figs. 2C&D)。Cont 群と比較して LPS 群では SST におけるグルーミング累積時間が有意に減少し、CUD003 群でその増加が軽減する傾向が見られた (Fig. 2E)。

Table 1 LPS 投与による体重および飲水量の変化に対する CUD003 単回予防投与の影響

	Cont	LPS	LPS					
			Cur (single treatment)			CUD003 (single treatment)		
			3 mg/kg	10 mg/kg	30 mg/kg	3 mg/kg	10 mg/kg	30 mg/kg
Body weight change (%)	100.1 ± 0.6	91.4 ± 1.1 **	89.4 ± 0.9 **	90.9 ± 0.6 **	91.7 ± 0.6 **	91.4 ± 0.4 **	90.1 ± 0.6 **	90.0 ± 0.3 **

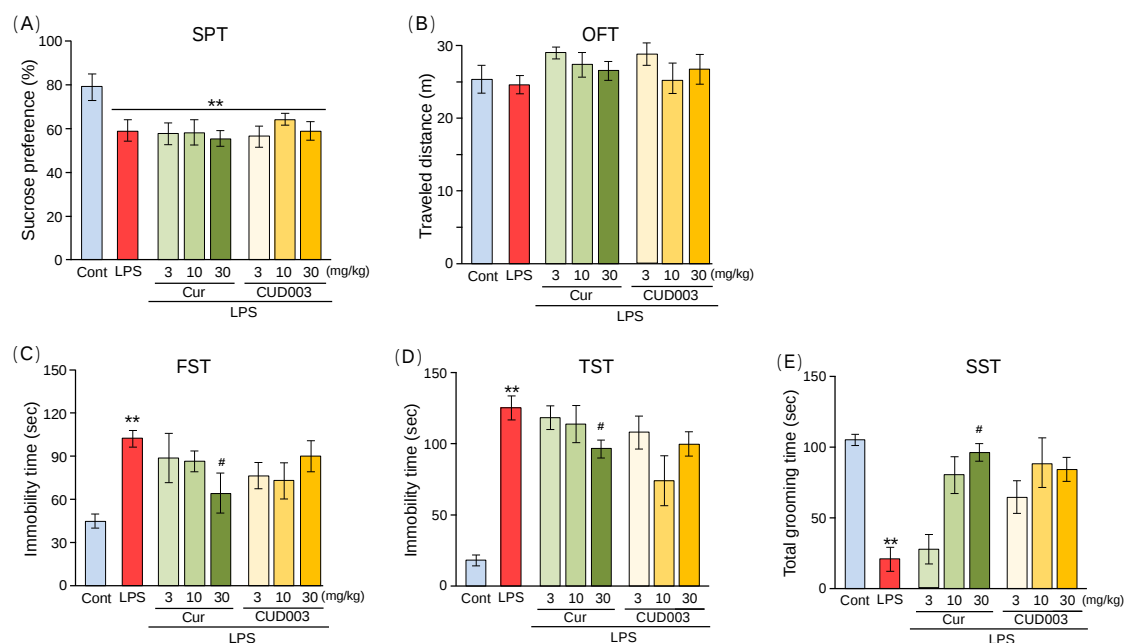


Fig. 2 LPS 誘発うつ様行動に対する CUD003 単回予防投与の効果

n=7-15/group. **P<0.01 vs cont, #P<0.05 VS LPS.

CUD003 の連続予防投与

LPS 投与 24 時間後の体重は約 10%減少した。Cur および CUD003 を連続予防投与した群も LPS 群と同様の値であった (Table 2)。Cont 群と比較して LPS 群では SPT におけるスクロース選択性の有意な低下が認められた。Cur 群および CUD003 群は LPS 群と同等の値であった (Fig. 3A)。OFT における行動量に各群間に差は認められなかった (Fig. 3B)。Cont 群と比較して LPS 群では FST および TST における無動時間が有意に増加し、Cur (30) 群、CUD003 (10、30) 群は LPS 群と比較して有意に低下した (Figs. 3C&D)。Cont 群と比較して LPS 群では SST におけるグルーミング累積時間が有意に減少した。また LPS 群と比較して CUD003 (10、30) 群で有意に増加した (Fig. 3E)

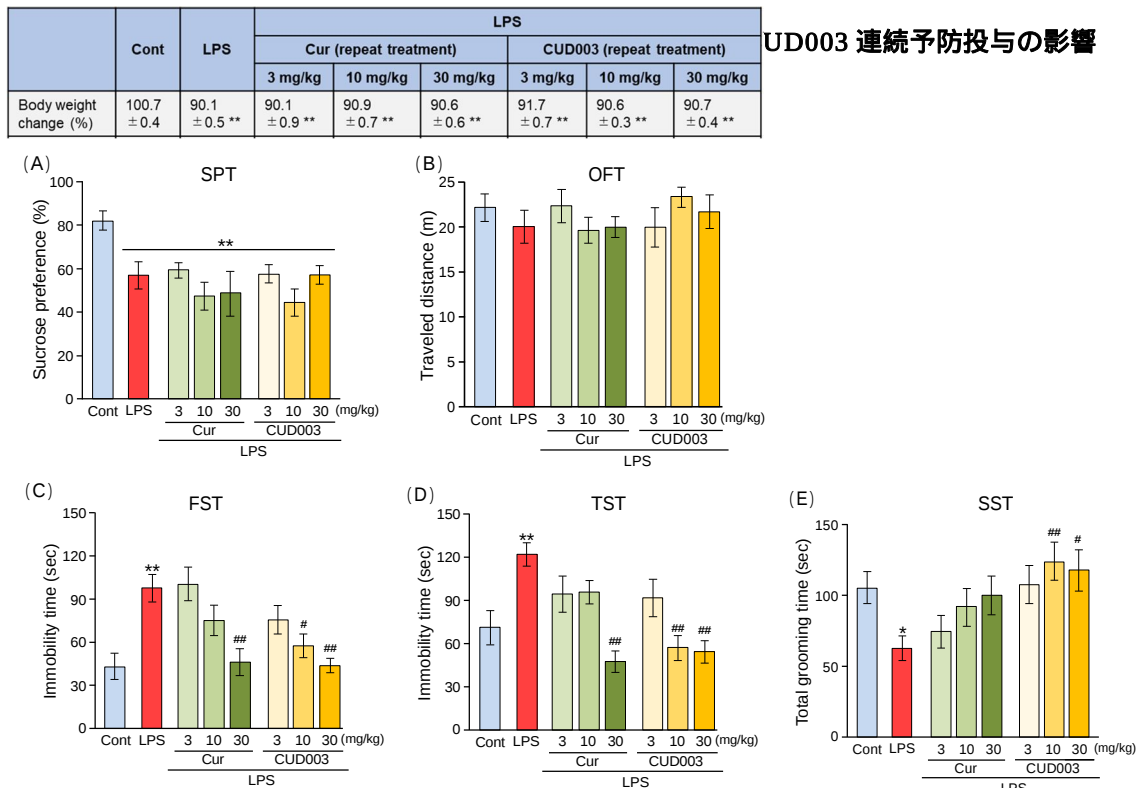


Fig. 3 LPS 誘発うつ様行動に対する CUD003 連続予防投与の効果

n=7-15/group. **P<0.01 vs cont, #, ##P<0.05, 0.01 VS LPS.

CUD003 の単回治療投与

OFT における行動量に各群間に差は認められなかった (Fig. 4A)。Cont 群と比較して LPS 群では TST における無動時間が有意に増加し、CUD003 (30) 群は LPS 群と比較して有意に低下した (Fig. 4B)。

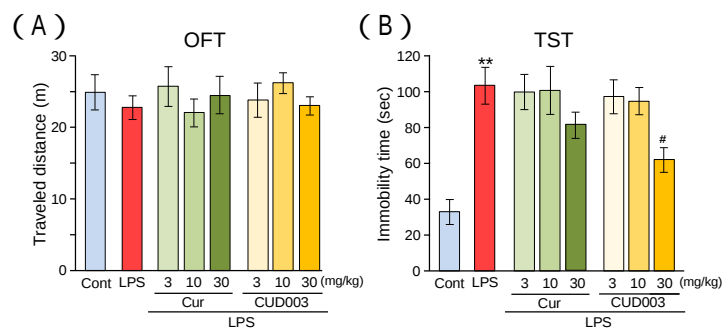


Fig. 4 LPS 誘発うつ様行動に対する CUD003 単回治療投与の効果

n=4-9/group. **P<0.01 vs cont, #P<0.05 VS LPS.

(3) CUD003 の連続予防投与による血漿炎症性サイトカインおよび海馬酸化ストレスに対する効果

LPS 投与 24 時間後の血漿中 TNF- α および IL-1 β 濃度は、Cont 群と比較して有意に増大した。TNF- α 濃度の増加は、Cur (10) 群および CUD003 群で有意に抑制された (Fig. 5A)。IL-1 β 濃度は、CUD003 (10、30) 群で有意に低値を示した (Fig. 5B)。

LPS 投与により、海馬 CA1 領域における O₂ 量が有意に増大し、Cur (10) 群および CUD003 (3 および 10) 群では Cont 群と同程度まで低下した (Figs. 6A&B)。

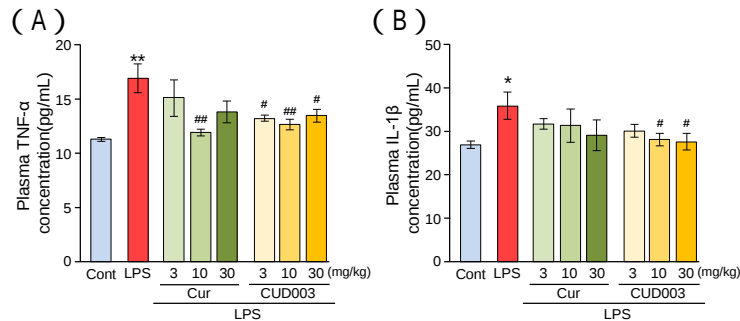


Fig. 5 LPS による血漿中炎症性サイトカイン増加に対する CUD003 連続治療投与の効果

n=5-8/group. *, **P<0.05, 0.01 vs cont, #, ##P<0.05, 0.01 VS LPS.

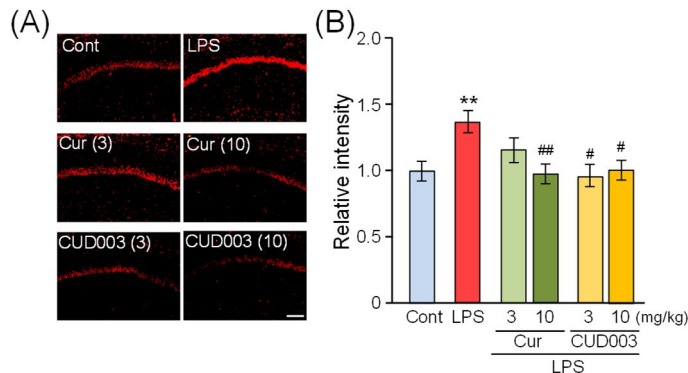


Fig. 6 LPS による海馬酸化ストレス増大に対する CUD003 連続治療投与の効果

n=4-7/group. **P<0.01 vs cont, #, ##P<0.05, 0.01 VS LPS.

以上の結果から、CUD003 を予防的に 5 日間連続投与することで、LPS 誘発うつ様行動の発現を比較的低濃度から強く抑制できることが明らかとなった。そのメカニズムの一部として、LPS による炎症性サイトカインの増加、酸化ストレスの増大の抑制が関与することが示された。また、うつ様症状発症後 (LPS の投与後) でも CUD003 は Cur よりも強い治療効果を示す可能性が示された。これらの事から、CUD003 はうつ病の治療薬としての可能性のみならず、うつ病の発症を予防するという予防的薬物療法の可能性も示すことが出来たのではないかと考えている。

しかし、5 日間の連続投与で効果が急激に増加するメカニズムや、血漿炎症性サイトカイン量および海馬酸化ストレス以外への影響、すなわち脳内各部位における神経伝達物質の量や受容体、各種酵素への影響など解明出来ていない点も多いため、更なる研究が必要であると考えられる。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1 . 発表者名 松崎 広和、指田 雅輝、石橋 悠、玄 美燕、高山 淳、坂本 武史、袁 博、岡崎 真理
2 . 発表標題 新規クルクミン誘導体CUD003の抗うつ薬としての可能性
3 . 学会等名 第96回 日本薬理学会（招待講演）
4 . 発表年 2022年

1 . 発表者名 松崎 広和、指田 雅輝、石橋 悠、玄 美燕、高山 淳、坂本 武史、袁 博、岡崎 真理
2 . 発表標題 マウスのLPS誘発うつ様行動に対するクルクミン誘導体CUD003の予防効果
3 . 学会等名 日本薬学会第143年会
4 . 発表年 2023年

1 . 発表者名 松崎 広和、端詰 由佳、松岡 遊史、玄 美燕、高山 淳、坂本 武史、袁 博、岡崎 真理
2 . 発表標題 マウスを用いた新規クルクミン誘導体CUD003の抗うつ作用の評価
3 . 学会等名 日本薬学会 第142年会
4 . 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6 . 研究組織

	氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
研究 分 担 者	坂本 武史 (Sakamoto Takeshi) (20187040)	城西大学・薬学部・教授 (32403)	

6．研究組織（つづき）

	氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
研究 分担者	岡崎 真理 (Okazaki Mari) (50272901)	城西大学・薬学部・教授 (32403)	
研究 分担者	袁 博 (Yuan Bo) (10328552)	城西大学・薬学部・教授 (32403)	
研究 分担者	玄 美燕 (Xuan Meiyuan) (50711751)	城西大学・薬学部・助教 (32403)	

7．科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8．本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------