

平成 22 年 5 月 10 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007 ～ 2009
 課題番号：19590261
 研究課題名（和文） サブスタンス P 受容体を標的とした新規抗うつ薬の探索と脳機能画像による有効性評価
 研究課題名（英文） Research on substance P receptor as a novel target for antidepressant therapy using neuroimaging techniques

研究代表者
 鈴木 秀典（SUZUKI HIDENORI）
 日本医科大学・大学院医学研究科・教授
 研究者番号：30221328

研究成果の概要（和文）：

新規NK-1リガンドを用いた陽電子断層撮像法(PET)によってヒト生体脳内NK-1受容体分布の観察を行った。気分障害あるいは不安障害の責任部位とされる辺縁系や前頭前皮質において発現がみられた。認知機能に対する抗うつ薬の効果を機能的磁気共鳴撮像法（fMRI）を用いて計測した。今後これらの脳機能画像を組み合わせ、疾患特有の脳活動変化あるいは新規抗うつ薬の有効性判定に有用な客観的手段を構築できると考えられた。

研究成果の概要（英文）：

NK-1 receptors in the human brain were visualized and quantified using ^{18}F -FE-SPA-RQ with PET. The prefrontal and the limbic cortices, the regions responsible for the depression and the anxiety disorders, expressed substantial amount of NK-1 receptors. An fMRI study revealed neural substrates influenced by an antidepressant during the cognitive task performance. The combined application of both noninvasive neuroimaging techniques could be of great utility for development and evaluation of drugs to treat psychiatric disorders.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2008年度	800,000	240,000	1,040,000
2009年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・薬理学一般

キーワード：うつ・不安動物モデル、機能的磁気共鳴撮像法、気分障害、サブスタンス P 受容体、セロトニン神経系、選択的セロトニン再取り込み阻害薬、認知機能、陽電子断層撮像法

1. 研究開始当初の背景

うつ病の生涯有病率は 10~20%とも推定され、その病態解明や効果的な治療法の確立を目指した研究は、社会的要請が極めて高い。現在汎用されている薬物は消化管、心機能などに対する有害反応の点において問題を少なからず抱え、また約 20%の患者が治療に抵抗性を示していることも考え合わせると、新しい作用機序の薬物の導入がひとつの解決策として望まれる。

サブスタンス P (SP) はタキキニンと総称される一群の神経ペプチドのひとつであるが、近年、中枢において SP 受容体 (NK-1) 拮抗薬が、新しい抗うつ・抗不安薬として有望であると考えられるようになった。しかし、その作用部位あるいは機序についての検討は、げっ歯類が中心で霊長類における報告はほとんど無かった。NK-1 拮抗薬の鎮痛薬としての開発過程においても、げっ歯類だけでなく、ヒトを含めた霊長類における実験事実を集積することの必要性が求められていた。我々はサルータキキニン受容体のクローニングを行って mRNA 分布を検討し、扁桃体においてはげっ歯類とサブタイプ分布が異なることを明らかにした。これらの結果をうけ、ヒトにおける NK-1 受容体の分布を生体において検討することが必要であるとの考えに至った。

現在、うつ病の病態は完全に解明されていないが、うつ病を代表とする気分障害の病態仮説として、情動機構を司る神経回路内の機能異常が提唱されている。動物実験では、これらの回路に SP 含有神経系が豊富に含まれていること、扁桃体において SP 神経回路のうつ病態への関与が推察されることなどが報告されている。今後、NK-1 受容体拮抗薬の抗うつ薬としての可能性を模索し、実際に治療薬を開発していく場合、この神経回路をヒトで検討し、その異常部位における神経伝達機能を再び動物実験モデルで詳細に探索することは、大変有意義であると考えられる。

陽電子断層撮像 (PET) および機能的磁気共鳴撮像法 (fMRI) は、ヒトにおいて客観的脳機能研究手段として大きな可能性を持っている。PET は放射性リガンドを用いて生体の脳内神経伝達物質受容体分布を可視化できる唯一の手段である。fMRI は被験者に認知課題を遂行させ、その間の脳活動を BOLD 信号と呼ばれる測定量として記録し、係る認知機能と脳部位との関連性を定量的に評価するものである。近年、この手法は薬物学分野へ応用され、薬理的 fMRI と呼ばれる新たな研究手段を確立するに至っている。すなわち

薬理的 fMRI によって様々な認知機能を担う脳神経ネットワークが、薬物の影響下でいかなる修飾を受けるかが検討できる。この手法はヒトにおいて特定の神経伝達物質と認知機能との関わりを客観的に明らかにできるものと期待される。

従って、ヒト薬理的 fMRI あるいは PET 研究の結果と動物実験結果を相互にフィードバックさせ、NK-1 受容体拮抗薬および現在使用されている抗うつ薬の作用機構を検討することによって、うつ病の病態解明と治療法の確立に大きく貢献すると思われる。

2. 研究の目的

上記のような背景を踏まえ、本研究では NK-1 受容体拮抗薬の抗うつ薬としての可能性を包括的に検討することを目的として、以下に挙げる 3 点を中心課題に据えた。

(1) 新規 PET リガンドを用いてヒト生体における NK-1 受容体発現分布について調べる。

(2) 従来の抗うつ薬群の認知機能、情動機能に及ぼす客観的な効果を明らかにすることを目的として、薬理的 fMRI 研究を行う。これによって各薬物群の脳機能に与える影響を知るとともに、客観的な薬物評価の指標を得、将来 NK-1 受容体拮抗薬の臨床効果を調べる参照とする。

(3) うつ・不安動物モデルを用いてセロトニン神経系とサブスタンス P 神経系の相互作用についてヒト画像研究の結果を還元しつつ検討し、薬物治療の理論的根拠となりうる実験事実を蓄積する。

3. 研究の方法

(1) NK-1 受容体リガンドを用いたヒト生体における PET 研究

ヒトにおいて生体脳における NK-1 受容体発現を検討するために、新規 NK-1 リガンドを開発し、PET 研究を行った。ヒトでの検討を行うに先立って、前臨床試験を行った。安全性が証明された後に、本リガンドのヒトにおける脳内薬物動態試験を施行し、これによって、時間-活性曲線を得、実際の臨床研究を行うにあたっての検査プロトコルの最適化を行った。この研究は放射線医学総合研究所との共同研究で行った。

(2) 薬理的 fMRI 研究

健常人において、選択的セロトニン再取り込み阻害薬 (SSRI) ないしプラセボを服薬、薬物動態から最高血中濃度と考えられる時間において認知課題を遂行させ、その間の脳活動を fMRI によって記録した。認知課題としては、前頭葉と大脳辺縁系の連繋を調べるスト

ループ課題を検討した。この研究は玉川大学との共同研究で行った。

(3) うつ・不安動物モデルを用いた研究
うつ・不安動物モデルとしては、妊娠時ストレス負荷によって仔動物に出現するうつ・不安様行動異常モデル、および拘束ストレスモデルを、ラットあるいはマウスを用いて作製した。モデルが確立した後、前頭前野におけるタキキニン、セロトニン、あるいは GABA 神経系の変化を生化学的あるいは電気生理学的に検討した。また治療薬の効果を行動変化と併せて観察した。

4. 研究成果

(1) 新規 NK-1 受容体リガンド [18F]FE-SPA-RQ の薬物動態に関する PET 研究
放射線医学研究所との共同研究で新規 SP 受容体リガンド [18F]FE-SPA-RQ を開発した。本リガンドによって、げっ歯類から非ヒト霊長類において脳内 NK-1 受容体の分布が確認されている。ヒトにおける検討に先立ち、マウスを用いて前臨床安全性試験を行い、本リガンドの安全性を確認した。

この基礎データを基に、ヒトを対象とした脳内薬物動態試験を行った。男性健常者を被験者として [18F]FE-SPA-RQ を経静脈投与後、330 分後までの PET 検査を施行した。小脳を参照領域として血液入力関数を用いた動態解析 (indirect kinetic method) により、各脳部位の結合能 (BP) を求めた。さらに血液入力関数を用いない 2 種の算出法 (ratio method, SRTM) と比較した。放射能濃度は尾状核、被殻で最も高く、小脳で最も低かった。気分障害あるいは不安障害の責任部位とされる辺縁系や前頭前皮質においても十分な BP 値が得られた。算出された NK-1 受容体分布は、非ヒト霊長類 PET 研究から得られた分布および我々が報告したサル各脳部位の NK-1 mRNA 分布ともよく一致していた。前臨床試験からは本リガンドは平衡状態に到達する時間が長いという欠点を指摘されていたが、線条体以外の領域では、120-180 分の測定時間でも正確な値が得られることがわかった。また ratio method が indirect kinetic method で得られた値と良く相関するため、被験者から血液採取することなく BP を測定できることが明らかとなった。以上より、本リガンドが臨床研究において実用可能であることが示された。

いままでの知見を基に、さらに脳移行性が高く、薬物動態が速い PET 用 NK-1 受容体リガンドの探索に着手した。複数の候補物質を見だし、現在げっ歯類および非ヒト霊長類

で検討中である。

(2) 機能的磁気共鳴撮像法を用いた薬理学的研究 (薬理学的 fMRI)

現在汎用されている選択的セロトニン再取り込み阻害薬 (SSRI) フルボキサミンを検査対象の抗うつ薬として用いた。健康成人 10 名に本薬物を急性単回投与し、MRI 装置内でストループ型干渉課題を遂行させ、認知機能に関与する前頭葉ないし大脳辺縁系の活動を計測した。干渉課題遂行時における脳活動をコントロール課題遂行時に対して比較したところ、プラセボ投与下では概ね全ての被験者において、帯状回から運動野にかけての領域、大脳辺縁系における尾状核・被殻、また視覚野、小脳に賦活が認められた。さらに各部位における BOLD 信号の時系列データを抽出・解析したところ、各部位における活動の時間的変動が互いに連関することが分かった。すなわち本課題のような注意力が要求される認知課題遂行過程では、これらの領域が相関して機能することが示された。一方、フルボキサミン服用下では、これらの領域の多くで賦活の低下が認められ、その傾向は特に帯状回-運動野から大脳辺縁系にかけて顕著であることが分かった。帯状回周辺領域は、注意や情動などの認知機能で重要な役割を果たすことが知られており、SSRI はこれらの機能の一部を低下させる可能性が示唆された。抗うつ薬の作用機構の神経基盤を探る上で、薬理学的 fMRI は有用な研究手段になりうると考えられた。

(3) うつ・不安動物モデルを用いた研究
うつ・不安動物モデルとして、妊娠時ストレス負荷によって仔動物が成長後うつ・不安様行動異常をしめすラットモデルを確立し、セロトニン神経系と SP 神経系の相互作用について検討した。ストレス負荷として妊娠後期にデキサメサゾン投与すると、雄仔ラットにおいて生後 10 週以降、明暗選択試験およびオープンフィールド試験において不安様行動を呈した。分子生物学的検討では、生後 4 週および 12 週齢の前頭前野において、セロトニン受容体 5-HT_{1A} mRNA の発現低下がみられた。一方、12 週齢のタキキニン受容体 NK-1 mRNA には変化が見られなかった。セロトニン神経系の変化がみられたことから、治療の可能性を検討するために、母乳から仔への薬物移行を期待し、母ラットに授乳期間中、選択的セロトニン再取り込み阻害薬 (SSRI) を経口投与した。成長後の行動試験によって、SSRI 投与群では不安様行動が消失していることが確認された。同時に、5-HT_{1A} mRNA の発現も 4 週時点で非ストレス対照群と差がなか

った。さらに神経系の発達に大きく関与する脳由来神経栄養因子 (BDNF) の発現を検討したところ、ストレス負荷群で生後 4 週の前頭前野 BDNF タンパク量の低下がみられ、SSRI を投与することによって、その発現低下も回復していた。以上の結果から、本うつ・不安モデルの発達期においては、セロトニン神経系と SP 神経系はそれぞれ異なった発現変化を示し、成長後の行動異常については前頭前野セロトニン神経系の関与が重要であることが示唆された。発達期セロトニン神経系変化の分子基盤として BDNF が関与している可能性も考えられた。

別の疾患モデルにおいて検討するため、慢性拘束ストレスをマウスに負荷した。このストレスモデルにおいて、行動実験で多動が観察された。前部帯状回の電気生理学的検討を行ったところ、GABA 作動性神経系の機能低下と、それに起因する興奮性シナプス可塑性の増大が観察された。すなわち前頭前野の GABA 作動性神経系も病態に関与している可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 14 件)

- ① Kobayashi K, Ikeda Y, Sakai A, Yamasaki N, Haneda E, Miyakawa T, Suzuki H. Reversal of hippocampal neuronal maturation by serotonergic antidepressants. Proc Natl Acad Sci USA. In press 査読有
- ② Shimoda T, Liang Z, Suzuki H, Kawana S. Inhibitory effects of antipsychotic and anxiolytic agents on stress-induced degranulation of mouse dermal mast cells. Clin Exp Dermatol. In press 査読有
- ③ Ikeda Y, Yahata N, Takahashi H, Koeda M, Asai K, Okubo Y, Suzuki H. Cerebral activation associated with speech sound discrimination during the diotic listening task: An fMRI study. Neurosci Res. 67: 65-71, 2010. 査読有
- ④ Ito H, Nagano M, Suzuki H, Murakoshi T. Chronic stress enhances synaptic plasticity due to disinhibition in the anterior cingulate cortex and induces hyper-locomotion in mice. Neuropharmacol. 58: 746-757, 2010. 査読有
- ⑤ Saitow F, Murano M, Suzuki H. Modulatory effects of serotonin on GABAergic synaptic transmission and membrane properties in the deep cerebellar nuclei. J Neurophysiol. 101: 1361-1374, 2009. 査読有
- ⑥ Ikeda Y, Yahata N, Ito I, Nagano M, Toyota T, Yoshikawa T, Okubo Y, Suzuki H. Low serum levels of brain-derived neurotrophic factor and epidermal growth factor in patients with chronic schizophrenia. Schizophr Res. 101: 58-66. 2008. 査読有
- ⑦ Sakai A, Asada M, Seno N, Suzuki H. Involvement of neural cell adhesion molecule signaling in glial cell line-derived neurotrophic factor-induced analgesia in a rat model of neuropathic pain. Pain 137: 378-388, 2008. 査読有
- ⑧ Nagano M, Ozawa H, Suzuki H. Prenatal dexamethasone exposure affects anxiety-like behaviour and neuroendocrine systems in an age-dependent manner. Neurosci Res. 60: 364-371, 2008. 査読有
- ⑨ Matsumura T, Sakai A, Nagano M, Sawada M, Suzuki H, Umino M, Suzuki H. Increase in hemokinin-1 mRNA in the spinal cord during the early phase of a neuropathic pain state. Br J Pharmacol. 155: 767-774, 2008. 査読有
- ⑩ Kobayashi K, Ikeda Y, Haneda E, Suzuki H. Chronic fluoxetine bidirectionally modulates potentiating effects of serotonin on the hippocampal mossy fiber synaptic transmission. J Neurosci. 28: 6272-6280, 2008. 査読有
- ⑪ Yamasaki N, Maekawa M, Kobayashi K, Kajii Y, Maeda J, Soma M, Takao K, Tanda K, Ohira K, Toyama K, Kanzaki K, Fukunaga K, Sudo Y, Ichinose H, Ikeda M, Iwata N, Ozaki N, Suzuki H, Higuchi M, Suhara T, Yuasa S, Miyakawa T. Alpha-CaMKII deficiency causes immature dentate gyrus, a novel candidate endophenotype of psychiatric disorders. Mol Brain. 1: 6, 2008. 査読有
- ⑫ Okumura M, Arakawa R, Ito H, Seki C, Takahashi H, Takano H, Haneda E, Nakao R, Suzuki H, Suzuki K, Okubo Y, Suhara T. Quantitative analysis of NK1 receptor in the human brain using PET with

¹⁸F-FE-SPA-RQ. J Nucl Med. 49: 1749-1755, 2008. 査読有

- ⑬ Sato C, Sakai A, Ikeda Y, Suzuki H, Sakamoto A. The prolonged analgesic effect of epidural ropivacaine in a rat model of neuropathic pain. Anesth Analg. 106: 313-320, 2008. 査読有
- ⑭ Katayama M, Aoki E, Suzuki H, Kawana S. Foot shock stress prolongs the telogen stage of the spontaneous hair cycle in a non-depilated mouse model. Exp Dermatol, 16: 553-560, 2007. 査読有

[学会発表] (計 57 件)

- ① Kobayashi K, Ikeda Y, Sakai A, Suzuki H. Reversal of hippocampal neuronal maturation by chronic inhibition of serotonin reuptake. 36th International Union of Physiological Sciences 2009. 7. 27-8. 1. Kyoto (Japan)
- ② Kobayashi K, Ikeda Y, Sakai A, Suzuki H. Chronic SSRI changes the maturation state of dentate granule cells. 6th FENS forum of European Neuroscience 2008. 7. 12-16. Geneva (Switzerland)
- ③ Ikeda Y, Kobayashi K, Suzuki H. Chronic SSRI treatment increases behavioral instability and anxiety-related behaviors in association with reduced hippocampal mossy fiber synaptic facilitation. 6th FENS forum of European Neuroscience 2008. 7. 12-16. Geneva (Switzerland)
- ④ Kobayashi K, Ikeda Y, Suzuki H. Multiple effects of chronic fluoxetine on hippocampal synaptic transmission and behaviors in mice. Neuroscience 2008, the Society for Neuroscience's 38th annual meeting, 2008. 11. 15-19. Washington DC (USA)
- ⑤ Ikeda Y, Yahata N, Takahashi H, Koeda M, Okubo Y, Suzuki H. An fMRI study on auditory selective attention in diotic listening paradigm. Neuroscience 2008, the Society for Neuroscience's 38th annual meeting, 2008. 11. 15-19. Washington DC (USA)
- ⑥ Yahata N, Sasaki T, Matsumoto S, Matsuda T, Suzuki H, Okubo Y, Sakai K. Modulation of the human emotional system by subacute fatigue load: an fMRI study. Neuroscience 2008, the Society for Neuroscience's 38th annual meeting,

2008. 11. 15-19. Washington DC (USA)

- ⑦ Kobayashi K, Ikeda Y, Yamasaki N, Takao K, Suzuki H, Miyakawa T. Impaired dentate granule cell functions in alpha-CaMKII deficient mice. 7th IBRO World Congress of Neuroscience. 2007. 7. 12-17. Melbourne Convention Centre (Australia)
- ⑧ Ikeda Y, Ito I, Yahata N, Nagano M, Toyota T, Okubo Y, Suzuki H. Serum neurotrophic factor levels are associated with pathophysiological features of schizophrenia. 7th IBRO World Congress of Neuroscience. 2007. 7. 12-17. Melbourne Convention Centre (Australia)
- ⑨ Haneda E, Higuchi M, Maeda J, Inaji M, Okauchi T, Suzuki K, Suzuki H, Suhara T. Applicability of high-resolution imaging systems to observe in vivo mapping of central NK1 receptors in laboratory animals. 7th IBRO World Congress of Neuroscience. 2007. 7. 12-17. Melbourne Convention Centre (Australia)

[図書] (計 1 件)

- ① 鈴木秀典 星和書店 クルグス診療科 (4) 基礎医学 第 4 章 薬理学 2008 p139-161

[その他]

ホームページ等
<http://www.nms.ac.jp/nms/pharmacol/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鈴木 秀典 (SUZUKI HIDENORI)
(日本医科大学・大学院医学研究科・教授)
研究者番号: 30221328

(2) 研究分担者

大久保 善朗 (OKUBO YOSHIRO)
(日本医科大学・大学院医学研究科・教授)
研究者番号: 20213663

永野 昌俊 (NAGANO MASATOSHI)
(日本医科大学・医学部・講師)
研究者番号: 60271350

池田 裕美子 (IKEDA YUMIKO)
(日本医科大学・医学部・助教)
研究者番号: 10386154

坂井 敦(SAKAI ATSUSHI)
(日本医科大学・医学部・助教)
研究者番号：30386156

(3)連携研究者

須原 哲也(SUHARA TETSUYA)
(独立行政法人放射線医学研究所・分子イメージング・グループリーダー)
研究者番号：90216490

伊藤 浩(ITO HIROSHI)
(独立行政法人放射線医学研究所・分子イメージング・グループリーダー)
研究者番号：20360357

松田 哲也(MATSUDA TETSUYA)
(玉川大学・学術研究所・講師)
研究者番号：30384720

八幡 憲明(YAHATA NORIAKI)
(東京大学・医学系研究科・特任助教)
研究者番号：70409150