

令和 4 年 6 月 1 日現在

機関番号：37104

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03410

研究課題名(和文) うつ病の薬物治療戦略：ドパミン神経系を標的とした新規治療法開発

研究課題名(英文) Pharmacological treatment of depression: development of novel therapeutics targeting the dopamine neuronal system

研究代表者

西 昭徳 (Akinori, Nishi)

久留米大学・医学部・教授

研究者番号：50228144

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：うつ病の病態には、セロトニン神経系に加えてドパミン神経系の異常が密接に関わっている。うつ様行動を制御するタンパク質p11によるドパミン神経系の調節作用を検討した結果、コリン作動性神経に発現するp11が側坐核や前頭前皮質でのドパミン神経の報酬応答や海馬応答に重要な役割を担っていることが明らかになった。また、コリン作動性神経のp11作用には、HCN2チャネルが関与していた。さらに、急性炎症により誘発されるうつ様行動はドパミン神経伝達の異常を伴うことも明らかになった。以上より、うつ病の病態においてドパミン神経回路の機能異常とそのp11による制御が重要であ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

抗うつ薬はセロトニン神経系に作用する薬物(SSRI)が主流であるが、治療抵抗性うつ病やアンヘドニアに有効な新規薬物療法の開発が望まれている。本研究により、ドパミン神経系はうつ病の病態と密接に関わっており、コリン作動性神経に発現するp11がその機能調節において重要な役割を果たしていることを明らかにした。p11を介するドパミン神経回路の調節系はうつ病の治療標的であり、詳細な調節分子メカニズムの解明は治療抵抗性うつ病の新規薬物療法を開発するためにも重要である。

研究成果の概要(英文)：Functional abnormalities of dopaminergic circuits as well as serotonergic circuits are involved in the pathophysiology of depression. p11, which is known to be related to depressive behaviors, likely contributes to the regulation of dopaminergic circuits, but details of its mechanisms are still elusive. Analyses of dopaminergic functions revealed that p11 expressed in cholinergic neurons plays critical roles in dopamine responses to reward and/or hippocampal stimulation in the nucleus accumbens and prefrontal cortex of mouse brain. HCN2 channels in cholinergic neurons are required for p11 function. In addition, dysfunction of dopaminergic circuits was detected in an acute systemic inflammation model of depression. This study suggests the importance of dopaminergic circuits and their regulation by p11 in the pathophysiology of depression.

研究分野：神経精神薬理

キーワード：治療抵抗性うつ病 アンヘドニア 抗うつ薬 ドパミン

1. 研究開始当初の背景

うつ病は、抑うつ気分に加えて喜び・興味の喪失や不安の増大を来す疾患である。うつ病の病態には、セロトニン神経系に加えてノルアドレナリン神経系、ドパミン神経系の異常が密接に関わっている。抗うつ薬として、SSRI（選択的セロトニン再取り込み阻害薬）、SNRI（セロトニン・ノルアドレナリン再取り込み阻害薬）が主に用いられているが、その効果は十分とは言えない。成人うつ病患者の3人に1人は、2種類の抗うつ薬を適切な用量・期間で用いても治療反応が得られない治療抵抗性うつ病であり、治療抵抗性うつ病の病態に基づいた新規薬物療法の開発が必要である。

2. 研究の目的

うつ病の病態には、セロトニン神経系に加えてドパミン神経系の異常が密接に関わっている。抗うつ薬はセロトニン神経系に作用する薬物（SSRI）が主流であるが、治療抵抗性うつ病やアンヘドニアに有効な新規薬物療法の開発が望まれている。我々は、SSRIの作用効率やアンヘドニアの病態にドパミン神経系およびその制御機構が重要であることを明らかにした。本研究では、ドパミン神経系のうつ病の病態における役割と治療標的としての可能性を明確にし、治療抵抗性うつ病およびアンヘドニアに対する新規薬物療法の開発を目指す。

3. 研究の方法

ドパミン神経系を標的とした新規うつ病薬物療法の開発戦略として、(1) ドパミン神経系における p11 の機能解析、(2) アンヘドニアモデルでの p11 機能解析、(3) 海馬歯状回顆粒細胞の D1 受容体発現細胞の機能解析、(4) 急性炎症うつ病モデルでのドパミン機能解析に基づいた治療標的の探索・同定と新規薬物療法の開発を行う。具体的には、うつ病の病態において、ドパミン神経伝達の調節分子として研究実績を持つ p11 と D1 受容体に着目した研究を中心に実施し、ドパミン神経伝達に関連した分子から神経細胞、神経伝達、神経回路、さらには行動までの一連の解析を実施する。

4. 研究成果

(1) ドパミン神経系における p11 の機能解析に基づいた治療法開発

p11 欠損マウスはうつ様行動を示すことより、p11 は抗うつ作用を示すタンパク質と一般に考えられている。p11 の機能解析が進むに従い、p11 の機能は神経サブタイプ・回路に特異的に規定されていることが明らかになった。ドパミン神経サブタイプ・回路における p11 の役割を、中脳辺縁系と中脳皮質系のドパミン神経回路で比較検討した。その結果、コリン作動性神経の p11 は側坐核のみでドパミン報酬応答を制御していた。一方で、海馬刺激によるドパミン応答（海馬応答）は、ChAT-Cre p11 cKO マウスにおいて側坐核（図 1 A）と前頭前皮質（図 1 B）の両方で低下していた。従って、前頭前皮質のドパミン海馬応答はコリン作動性神経入力により調整されていることが示唆された。

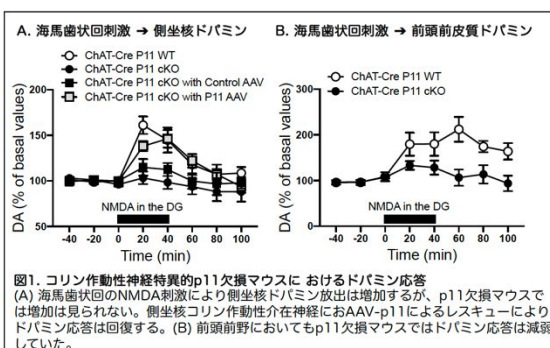


図1. コリン作動性神経特異的p11欠損マウスにおけるドパミン応答 (A) 海馬歯状回のNMDA刺激により側坐核ドパミン放出は増加するが、p11欠損マウスでは増加は見られない。側坐核コリン作動性神経におAAV-p11によるレスキューによりドパミン応答は回復する。(B) 前頭前野においてもp11欠損マウスではドパミン応答は減弱していた。

側坐核のコリン作動性神経で p11 レスキュー（過剰発現）を行うと、側坐核のドパミン海馬応答は改善されるが（図 1 A）、前頭前皮質での改善は見られなかった。前頭前皮質のドパミン海馬応答は、側坐核コリン作動性神経を介する回路とは異なる調節を受けていると考えられる。前頭前皮質のドパミン海馬応答を制御するコリン作動性神経として、前頭前皮質に投射する前脳基底部の神経核（マイネルト基底核、ブローカ対角帯核、内側中隔核）を想定した研究を継続中である。

これらの結果より、p11 シグナル系は、側坐核のみならず前頭前皮質において重要な役割を果たしていると考えられる。さらには海馬においても p11 シグナル系の重要性が指摘されており、p11 シグナル系は神経精神疾患の病態に重要な脳領域においてドパミン神経系の制御分子機構として機能していると考えられる（図 2）。

海馬歯状回顆粒細胞の興奮性調節には青斑核投射神経から放出されるノルアドレナリンが関与している。また、ノルアドレナリン神経からドパミンが共放出されることも知られている。青斑核には p11 が多く発現しているため、p11 が青斑核ノルアドレナリン神経の活性制御に関わっていると考えられる。そのため、TH-Cre p11cKO マウスで行動解析を行ったところ、TH-Cre p11 cKO マウスでは不安行動が減弱していることが明らかになった。腹側被蓋野ドパミン神経における p11 の発現レベルは低いことより、青斑核ノル

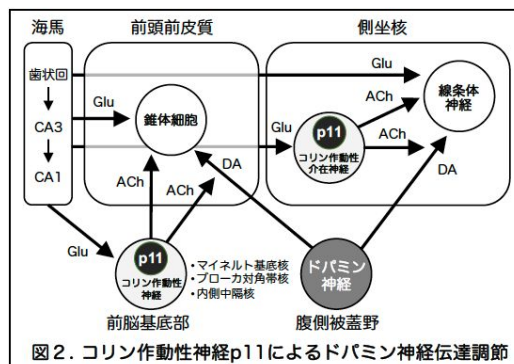


図2. コリン作動性神経p11によるドパミン神経伝達調節

ドレナリン神経での p11 欠損の表現型と考えられた。この仮説を検討するために、青斑核ノルアドレナリン神経で p11 を選択的に欠損する DBH-Cre p11 cKO マウスを作成した。しかし、残念ながら、DBH-Cre p11 cKO マウスでは継代を重ねると p11 が全身の細胞から欠損してくることが明らかになり、DBH-Cre が胎生早期に活性化されている可能性が考えられた。この問題を解決するために、NET-Cre マウスの導入を準備している状況である。

(2) アンヘドニアモデルを用いた治療法開発

うつ病モデルである p11 欠損マウスは、行動的絶望 (behavioral despair) とアンヘドニアを示す。コリン作動性神経で選択的に p11 を欠損する ChAT-Cre p11 cKO マウスを用いた解析により、側坐核のコリン作動性介在神経に発現する p11 が、報酬刺激によるコリン作動性介在神経活性化とアセチルコリン (ACh) 放出、アセチルコリンによるドパミン放出促進に重要であることが明らかになっている (図3)。p11 は、5-HT_{1B} 受容体の細胞膜発現や、コリン作動性介在神経の発火を制御する HCN2 チャネルの遺伝子発現に必須の分子である。コリン作動性介在神経における p11 シグナル系を制御することができればドパミン報酬応答の改善が期待できる。そこで、コリン作動性神経で HCN2、あるいは 5-HT_{1B} 受容体を選択的に欠損するマウスを用いて、ドパミン報酬応答を検討した。

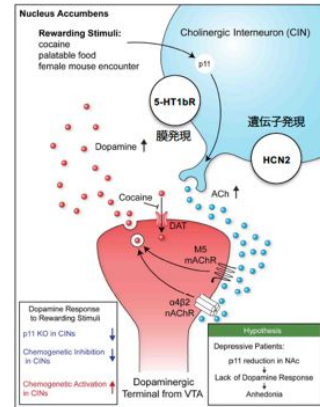


図3. 側坐核コリン作動性介在神経のp11システム系によるドパミン報酬応答の調節 (eNeuro ENEURO.0332-18.2018を改変)

コリン作動性神経で HCN2 を選択的に欠損するマウス (ChAT-Cre HCN2 cKO マウス) では、コカインの側坐核注入に対するドパミン応答、メスマウスとの接触や高嗜好性餌の摂取によるドパミン応答が低下していることが明らかになった。一方で、コリン作動性神経で 5-HT_{1B} 受容体を選択的に欠損するマウスでは、コカインの側坐核注入に対するドパミン応答、メスマウスとの接触や高嗜好性餌の摂取によるドパミン応答の変化は認めなかった。以上の結果より、p11 による報酬応答の変化には HCN2 が関与しており、ChAT-Cre HCN2 cKO マウスでは依存性薬物や自然報酬に対するドパミン応答が低下していることが明らかになった (投稿中)。

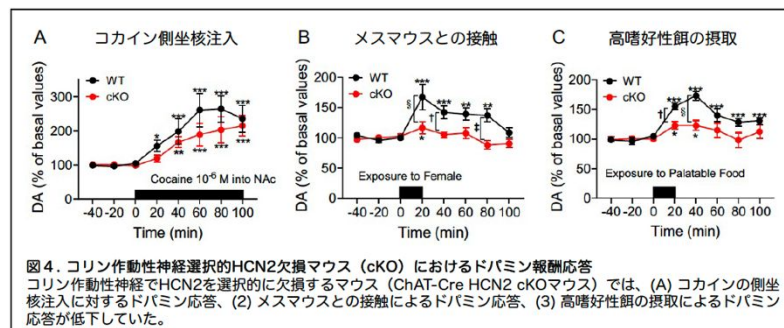


図4. コリン作動性神経選択的HCN2欠損マウス (cKO) におけるドパミン報酬応答
コリン作動性神経でHCN2を選択的に欠損するマウス (ChAT-Cre HCN2 cKOマウス) では、(A) コカインの側坐核注入に対するドパミン応答、(B) メスマウスとの接触によるドパミン応答、(C) 高嗜好性餌の摂取によるドパミン応答が低下していた。

(3) 海馬歯状回顆粒細胞の D1 受容体発現細胞の機能解析に基づいた治療法開発

D1 受容体プロモーター活性の高い海馬歯状回顆粒細胞を化学遺伝学的手法を用いて選択的に活性化し、うつ様行動に及ぼす影響を検討した。具体的には、Drd1-Cre マウスの歯状回に AAV-DIO-Gs-DREADD を注入した。Gs-DREADD が D1 受容体プロモーター活性の高い歯状回顆粒細胞に発現した 4 週後に、CLZ-2HCl を投与して行動実験を行った。Gs-DREADD 発現マウスでは、尾懸垂試験では無動時間の短縮、高架式十字迷路では Open Arm の滞在時間延長が認められた。このことより、D1 受容体プロモーター活性の高い歯状回顆粒細胞はうつ様行動や不安行動を制御していることが確認された。非選択的に歯状回顆粒細胞を活性化してうつ様行動や不安行動を評価する目的で POMC-Cre マウスに AAV-DIO-Gs-DREADD を注入して検討したが、POMC-Cre マウスの行動表現型が C57BL/6J マウス (遺伝背景) と異なっており解析が困難であった。そのため、POMC-Cre マウスを C57BL/6J マウスとバッククロスし、行動解析を実施している状況である。

顆粒細胞の興奮性調節には青斑核投射神経から放出されるノルアドレナリンが関与している。青斑核ノルアドレナリン神経の興奮性を化学遺伝学的手法により調節するために、DBH-Cre マウスの青斑核ノルアドレナリン神経に Gs-DREADD を発現させた後、CLZ-2HCl を投与して行動解析を行った。その結果、抗不安作用を示す結果が得られており、継続して解析を進めている。

(4) デキストラン硫酸ナトリウム (DSS) 急性炎症うつ病モデルの確立とドパミン機能異常解析に基づいた治療法開発

DSS による腸管の急性炎症によりうつ様行動をきたす DSS 急性炎症うつ病モデルを確立した。Raw264.7 細胞、初代培養マクロファージ、DSS 急性炎症うつ病モデルを用いて、TDO 阻害薬である 680C91 の効果を検証した。

Raw264.7 細胞において、680C91 (10 μM) は LPS により誘導される IL-1 と IL-6 の遺伝子発現を有意に抑制した。しかし、TNF 遺伝子の発現は抑制されなかった。また、TDO の欠損およ

び野生型マウスから調整した初代培養マクロファージにおいて、680C91 (50 μ M) は IL-1、IL-6 の遺伝子発現を抑制した。この結果から、680C91 は TDO 阻害とは異なる機序で IL-1 と IL-6 の発現を抑制すると考えられた。分子メカニズムの解析から、680C91 は LPS 刺激で活性化した STAT1、STAT3 を抑制して抗炎症作用を示すことが示唆された。

DSS 誘導性大腸炎に対しても 680C91 は抗炎症効果を示し、うつ・不安様行動を有意に抑制した。また DSS 誘導性大腸炎モデルマウスの側坐核では報酬刺激に対するドパミン応答性が低下したが、680C91 投与により有意な改善が認められた。以上の結果より、680C91 は、TDO 阻害効果に加えて、IL-1 と IL-6 の発現と STAT1 と STAT3 の活性化を抑制することが明らかになった。この 680C91 の作用メカニズムは、DSS 誘導性大腸炎モデルにおけるうつ・不安様行動及びドパミン報酬応答の改善にも寄与していると考えられた。

さらに、側坐核における RNAseq 遺伝子発現解析により、DSS 処置の急性期とうつ様行動を示す回復期に変動する遺伝子群を同定した。TDO 阻害薬による影響と遺伝子群の機能的役割について継続的に解析を進める。これらの結果は、うつ病の病態におけるドパミン神経系の機能変化とその病態メカニズムの解明の基盤となり、新たな治療標的候補分子の同定につながるものである。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 4件／うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Shuto T, Kuroiwa M, Sotogaku N, Kawahara Y, Oh YS, Jang JH, Shin CH, Ohnishi YN, Hanada Y, Miyakawa T, Kim Y, Greengard P, Nishi A.	4. 巻 25
2. 論文標題 Obligatory roles of dopamine D1 receptors in the dentate gyrus in antidepressant actions of a selective serotonin reuptake inhibitor, fluoxetine.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Mol Psychiatry	6. 最初と最後の頁 1229-1244
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41380-018-0316-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Hikida Takatoshi, Morita Makiko, Kuroiwa Mahomi, Macpherson Tom, Shuto Takahide, Sotogaku Naoki, Niwa Minae, Sawa Akira, Nishi Akinori	4. 巻 151
2. 論文標題 Adolescent psychosocial stress enhances sensitization to cocaine exposure in genetically vulnerable mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neuroscience Research	6. 最初と最後の頁 38 ~ 45
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neures.2019.02.007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Sugiyama Keita, Kuroiwa Mahomi, Shuto Takahide, Ohnishi Yoshinori N., Kawahara Yukie, Miyamoto Yuta, Fukuda Takaichi, Nishi Akinori	4. 巻 41
2. 論文標題 Subregion-Specific Regulation of Dopamine D1 Receptor Signaling in the Striatum: Implication for L-DOPA-Induced Dyskinesia	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 6388 ~ 6414
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1523/JNEUROSCI.0373-21.2021	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Nakamura Yukari, Longueville Sophie, Nishi Akinori, Herve Denis, Girault Jean Antoine, Nakamura Yuki	4. 巻 54
2. 論文標題 Dopamine D1 receptor expressing neurons activity is essential for locomotor and sensitizing effects of a single injection of cocaine	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 European Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 5327 ~ 5340
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/ejn.15394	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Kawahara Yukie, Ohnishi Yoshinori N, Ohnishi Yoko H, Kawahara Hiroshi, Nishi Akinori	4. 巻 24
2. 論文標題 Distinct Role of Dopamine in the PFC and NAc During Exposure to Cocaine-Associated Cues	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Neuropsychopharmacology	6. 最初と最後の頁 988 ~ 1001
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/ijnp/pyab067	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計15件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 5件)

1. 発表者名 沈 龍佑、外角 直樹、河原 幸江、西 昭徳.
2. 発表標題 炎症性腸疾患に合併するうつ病・不安障害の病態解明とトリプトファン代謝酵素阻害薬680C91の治療効果の解析
3. 学会等名 第41回日本臨床薬理学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shuto T, Kuroiwa M, Sotogaku N, Kawahara Y, Ohnishi Y, Hanada H, Nishi A
2. 発表標題 Obligatory roles of dopamine D1 receptors in the dentate gyrus in antidepressant actions of SSRI.
3. 学会等名 第42回日本神経科学大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nishi A
2. 発表標題 Role of dopamine D1 receptors in antidepressant action of SSRI
3. 学会等名 2nd Mini-symposium on Neuroglia in Health and Disease at Ljubljana University (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hanada Y, Kawahara Y, Ohnishi Y, Shuto T, Kuroiwa M, Sotogaku N, Greengard P, Sagi Y, Nishi A
2. 発表標題 p11 in cholinergic interneurons of the nucleus accumbens is essential for dopamine responses to rewarding stimuli.
3. 学会等名 Federation of European Physiology Society (FEPS) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nishi A
2. 発表標題 Role of dopamine D1 receptors in antidepressant action of SSRI
3. 学会等名 Communication and Sharing Workshop: 2nd Dopamine & Schizophrenia, at KBRI (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 河原 幸江、大西 克典、大西 陽子、河原 博、西 昭徳
2. 発表標題 コカイン関連キューに関わる前頭前野と側坐核ドーパミンの異なる役割
3. 学会等名 第95回日本薬理学会年会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

久留米大学医学部薬理学講座ホームページ
<http://www.med.kurume-u.ac.jp/med/pharm/index.html>

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	河原 幸江 (Kawahara Yukie) (10279135)	久留米大学・医学部・准教授 (37104)	
研究分担者	大西 克典 (Ohnishi Yoshinori) (10626865)	久留米大学・医学部・助教 (37104)	
研究分担者	黒岩 真帆美 (Kuroiwa Mahomi) (20585690)	久留米大学・医学部・助教 (37104)	
研究分担者	首藤 隆秀 (Shuto Takahide) (70412541)	久留米大学・医学部・准教授 (37104)	
研究分担者	外角 直樹 (Sotogaku Naoki) (60368884)	久留米大学・医学部・講師 (37104)	2019年度・2020年度の期間 2021年度は異動に伴い研究分担者を外れる(2021年 度所属：青森大学・薬学部・准教授)

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		
米国	ロックフェラー大学	アラバマ大学	
韓国	大邱慶北科学技術院 DGIST		
フランス	INSERM		