

令和 4 年 6 月 21 日現在

機関番号：37303

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K20134

研究課題名(和文)末梢組織における脳由来神経栄養因子の産生に着目したうつ病予防・改善薬創製の試み

研究課題名(英文) Development of prophylactic and antidepressant agents that target the BDNF expression in peripheral tissues

研究代表者

中島 健輔 (Nakajima, Kensuke)

長崎国際大学・薬学部・助教

研究者番号：90762162

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：脳内において脳由来神経栄養因子(BDNF)の産生を促進する物質は、うつ病予防・改善作用を示す。BDNFは脳だけでなく末梢組織においても産生され脳へと移行するため、末梢でBDNFの産生を促進する物質は抗うつ作用を示すと考えられる。本研究では、ヒト腎がん細胞ACHNを用いてアワなどの穀類および数種の柑橘類の果皮・果肉のBDNF産生促進作用を明らかとした。また、細胞実験で効果を示した漢方薬の経口投与がラット血中BDNF濃度を上昇させることも見出した。本研究で見出された物質は末梢組織に作用することで抗うつ作用を示すため、中枢移行性を考慮せずに臨床応用できる新規抗うつ薬の開発に貢献すると期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、中枢性疾患であるうつ病の克服を末梢から試みる点に新規性がある。うつ病をはじめとする中枢性疾患の薬剤開発は、被験物質が中枢へ十分に移行しないために中止される例が多い。しかしながら本研究で見出された物質は、末梢組織に作用することで抗うつ作用を示すため、脳移行性を考慮することなく臨床応用できる。またBDNFはストレスにより低下することも知られており、BDNFの産生を促進する食材はうつ病の予防に有用と考えられる。本研究の結果、数種の穀類・柑橘類のBDNF産生促進作用が明らかとなった。これらの食材のうつ病予防効果を明らかにすることができれば、食による簡便で安全なうつ病予防手段の構築につながる。

研究成果の概要(英文)：Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) upregulation in the brain is considered beneficial for the prevention and treatment of depression. Given that BDNF is also synthesized in various peripheral tissues and can be transported into the brain, substances that upregulate peripheral BDNF are considered important candidates for prophylactic and treatment agents for depression. In this study, we found that several foods, such as foxtail millet and the peel and pulp of several citrus cultivars, increased BDNF levels in the culture medium of the human kidney adenocarcinoma cell line ACHN. Furthermore, a traditional Japanese Kampo medicine that upregulated BDNF in ACHN cells increased the serum BDNF concentration in rats. Our findings will be useful for development of peripheral-acting agents for the prevention and treatment of depression.

研究分野：神経科学・医療系薬学

キーワード：うつ病 BDNF 末梢組織 穀類 和漢薬 チンピ 柑橘類

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

### 1. 研究開始当初の背景

うつ病は重大な健康被害をもたらす精神疾患であるが、有効な予防法はなく、既存の抗うつ薬では改善しない症例も多い。さらに、既存薬には効果の発現まで4週間以上かかるという問題点もある。そのため、うつ病予防手段の確立ならびに新規抗うつ薬の開発が待ち望まれている。

1997年、「神経細胞の新生を担う脳由来神経栄養因子（BDNF）の減少が、うつ病の発症につながる」という神経可塑性仮説が提唱された（*Duman et al. Arch. Gen. Psychiatry 1997*）。その後、うつ病の主要な発症原因であるストレスにより海馬のBDNF濃度が低下すること、ならびに脳へのBDNF投与はラットのうつ様症状を改善することなどが報告され、脳内におけるBDNF量の増加は、うつ病の予防・改善につながると考えられるようになった。また、BDNFは「脳由来」という名称ながら脳だけでなく様々な末梢組織においても産生され、血液脳関門を通過し、末梢から脳へと移行することも知られている（*Pan et al. Neuropharmacology 1998*）。

これらの背景から研究代表者は、末梢組織においてBDNFの産生を促進する物質は、脳内BDNF量の増加をもたらし、うつ病の予防・改善効果を示すのではないかとこの着想を得た。この着想に基づき、我々はヒト腎がん細胞ACHNおよびヒト肺がん細胞A549を利用したBDNF産生促進物質の探索評価系を構築し、BDNFの産生を促進する物質の探索を行ってきた。

### 2. 研究の目的

本研究では、うつ病予防手段の確立ならびに新規抗うつ薬の創製を目指し、①ACHN細胞およびA549細胞を利用したBDNFの産生を促進する物質の探索、②BDNF産生促進機序の解明、③探索により見出された物質のラット血中BDNF濃度に及ぼす影響の検討を行った。

### 3. 研究の方法

#### (1) メタノール抽出エキスの調製

被験物質（穀物、和漢薬および柑橘類）を粉砕し、メタノール中で12時間かく拌後、15,000×g、20°Cで5分間遠心した。その上清から溶媒を留去し残渣を得、ジメチルスルホキシドに溶解することでメタノール抽出エキスを調製した。

#### (2) 末梢組織由来細胞を用いたBDNF産生促進物質の探索

ACHN細胞およびA549細胞は10%FBS添加DMEM培地中、37°C、5%CO<sub>2</sub>条件下で培養した。被験物質をACHN細胞またはA549細胞の培養培地に添加し24時間培養した。その後、培地中BDNF濃度をELISAで測定し、その濃度を被験物質非添加群のものと比較することで被験物質のBDNF産生促進効果を評価した。被験物質の添加濃度は、MTT試験を行い、細胞生存率に影響を及ぼさなかった濃度とした。

#### (3) ラット血清BDNF濃度に及ぼす被験物質の影響

5週齢の雄性Wistarラットにコルチコステロン（20 mg/kg/day）を5週間にわたって皮下投与した。CORTの皮下投与後に被験物質の水溶液を1000 mg/kg/dayで強制経口投与した。5週間後に採血を行い血清サンプルを得た後、血清BDNF濃度をELISAで測定した。

#### (4) BDNF遺伝子発現に及ぼす被験物質の影響

被験物質のメタノール抽出エキスをACHN細胞の培養培地に添加し24時間培養後、トリゾール試薬にてRNAを抽出した。その後、逆転写により得たcDNAを用いてリアルタイムPCRを行い、BDNFのmRNA発現量を測定した。

#### 4. 研究成果

##### (1) 穀物の BDNF 産生促進効果

ACHN 細胞を用いて 20 種を超える穀物の BDNF 産生促進作用の検討を行った。それらのうちアワおよび赤アワのメタノール抽出エキスは ACHN 細胞の培地中 BDNF 濃度を有意に上昇させた (図 1)。白米の抽出エキスには効果が見られなかったことから、これらの雑穀の摂取は白米食に比して BDNF を上昇させるものと考えられる。

また、未精製小麦のメタノール抽出エキスを添加した A549 細胞の培養培地中 BDNF 濃度は、非添加群に比して有意に上昇したが、精製小麦では有意な変化は認められなかった (図 2A)。未精製の小麦は精製小麦に比べ亜鉛およびマグネシウムの含有量が多いことから、A549 細胞の BDNF 産生に及ぼすこれらのミネラルの影響を調べたところ、亜鉛の BDNF 産生促進効果が明らかになった (図 2B)。未精製小麦の BDNF 産生促進作用に亜鉛が一部、関与している可能性が示された。以上の結果より、末梢組織を作用点とする BDNF 産生促進食材としての未精製小麦の可能性が示された。

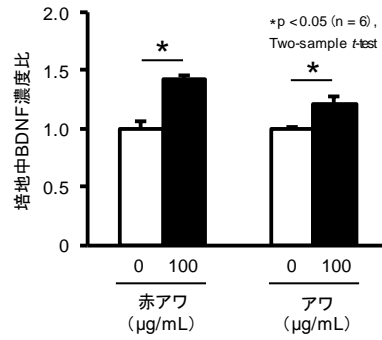


図1 ACHN細胞のBDNF産生に及ぼす雑穀の影響

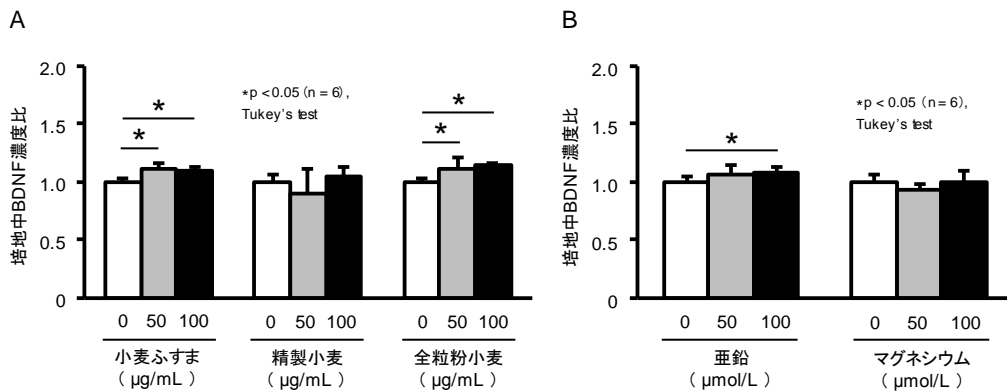


図2 A549細胞のBDNF産生に及ぼす小麦(A)およびミネラル(B)の影響

##### (2) 和漢薬の BDNF 産生促進効果

ACHN 細胞を用いて 24 種の漢方薬の検討を行い、香蘇散、四逆散、釣藤散、人参養榮湯および補中益気湯などの BDNF 産生促進作用を明らかとした (図 3)。

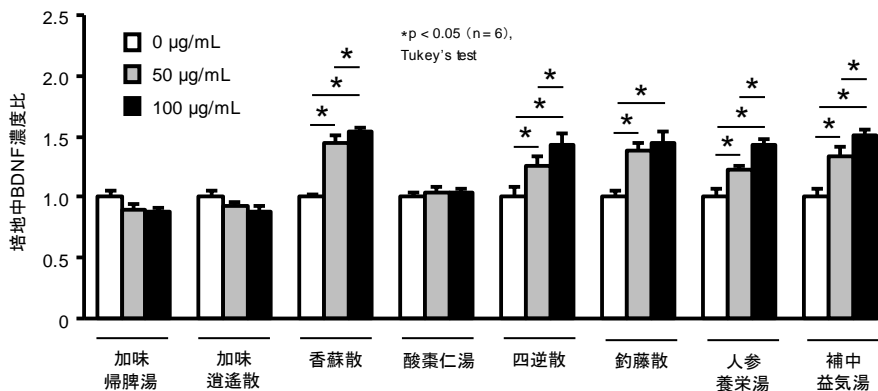


図3 ACHN細胞のBDNF産生に及ぼす漢方薬の影響



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Kensuke Nakajima, Shinya Okubo, Shigeru Oiso	4. 巻 81
2. 論文標題 Identification of traditional Japanese Kampo medicines and crude drugs that upregulate brain-derived neurotrophic factor in human peripheral cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Acta Neurobiologiae Experimentalis	6. 最初と最後の頁 393-404
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21307/ane-2021-042	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 -

1. 著者名 Kensuke Nakajima, Shigeru Oiso	4. 巻 70
2. 論文標題 Upregulating effect of wheat on brain-derived neurotrophic factor in human lung adenocarcinoma A549 cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Oleo Science	6. 最初と最後の頁 867-874
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.5650/jos.ess20327	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 -

1. 著者名 Kensuke Nakajima, Shigeru Oiso, Hiroko Kariyazono	4. 巻 66
2. 論文標題 Brain-derived neurotrophic factor up-regulation by the methanol extract of foxtail millet in human peripheral cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Nutritional Science and Vitaminology	6. 最初と最後の頁 284-288
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3177/jnsv.66.284	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 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 中島健輔、大久保伸哉、大磯茂
2. 発表標題 末梢組織由来細胞における柑橘類の脳由来神経栄養因子産生促進効果
3. 学会等名 第76回日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 友廣勇人、中島健輔、大磯茂
2. 発表標題 末梢組織由来細胞における赤アワのBDNF産生促進作用
3. 学会等名 日本薬学会第142年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中島健輔、大久保伸哉、大磯茂
2. 発表標題 脳由来神経栄養因子産生促進を機序とする新規抗うつ物質の探索に向けたin vitro 評価系の構築
3. 学会等名 第3回長崎県薬剤師学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中島健輔、大磯茂
2. 発表標題 ヒト肺がん細胞における未精製小麦の脳由来神経栄養因子産生促進効果
3. 学会等名 第75回日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中島健輔、大磯茂、仮屋園博子
2. 発表標題 末梢組織におけるBDNF産生促進作用を機序とする抗うつ食品素材の探索
3. 学会等名 日本農芸化学会2020年度大会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

長崎国際大学ホームページ  
<https://www1.niu.ac.jp/about/teacher/detail.html?tid=293>

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
研究協力者	大磯 茂  (Oiso Shigeru)	長崎国際大学  (37303)	

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
---------	---------