

機関番号：20101

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008年度～2010年度

課題番号：20591374

研究課題名（和文）統合失調症の新たな治療法開発
－薬物・細胞 combined 療法は有効か－研究課題名（英文）The new therapeutic approach for schizophrenia treatment
-study of the combined therapy using drug and cells-

研究代表者

鵜飼 渉 (UKAI WATARU)

札幌医科大学・医学部・講師

研究者番号：40381256

研究成果の概要（和文）：

胎生期に Poly I:C を処置することで統合失調症モデルラットを作成した。モデルラット群は、新奇物体探索試験における記憶・認知機能、社会相互作用試験における社会コミュニケーションの各機能に異常を示した。これに対し、モデル動物に神経幹細胞を経静脈的に移植した群では、その異常が正常対象群に近いレベルへ改善されることが分かった。また、モデルラットに移植した標識神経幹細胞は、1ヶ月～6ヶ月以上の期間、前部帯状回、海馬、扁桃体を含む脳の諸領域に分布、生存し、移植3ヶ月の脳内では、海馬、および扁桃体で GAD 陽性の細胞（GABAergic neuron）に分化・成熟していることを観察した。加えて、抗精神病薬のオランザピンを併用処置することで、移植細胞がより高率で脳に移行、生存する可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

We constructed schizophrenia model rat by injection of Poly (I:C) in the maternal period. Animals in the Poly (I:C) treatment group showed a significant memory/cognitive impairment and social dysfunction in each behavioral test and intravenous neural stem cell transplantation suppressed these behavioral abnormalities toward control levels. The transplanted marked neural stem cells were detected in the various brain regions including cingulate cortex, hippocampus and amygdala over 6 months after the intravenous injection. Specifically, we detected the transplanted neural stem cells in hippocampus and amygdala which were positive with GAD protein suggesting the successful differentiation of transplanted cells into GABAergic neurons in these areas. Moreover, it was demonstrated that combined treatment of antipsychotic olanzapine promoted the migration/survival of transplanted neural stem cells in the brain.

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|-----------|-----------|
| 2008年度 | 1,400,000 | 420,000 | 1,820,000 |
| 2009年度 | 1,100,000 | 330,000 | 1,430,000 |
| 2010年度 | 1,100,000 | 330,000 | 1,430,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,600,000 | 1,080,000 | 4,680,000 |

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・精神神経科学

キーワード：精神薬理学

1. 研究開始当初の背景

近年の脳画像学的研究の発展によって、うつ病、統合失調症、アルコール性脳障害等の精神疾患の患者の社会生活を困難にしている、社会的な認知の障害（他者の意図を読み取り、他者の行動を予測すること、他者の表情から他者の情動を理解すること）に、脳の特定部位の神経回路異常（萎縮）が密接に関わることが明らかとなっている。しかしながら、これらの脳形態変化の生物学的機序や、脳体積減少を抑制する方法はまだほとんど不明であり、現在の治療の中心である薬物療法、および電気痙攣療法にも反応性の乏しい難治例に対する有効な対処法は現在のところ全く存在しない。

本研究は、こうした精神疾患の脳で進む特定領域の脳破壊（萎縮）を、障害領域に特異的に移行する性質をもった神経幹細胞と、神経細胞の生存機能を上げ、かつ神経新生を促進させる効果をもつ薬剤、の両者の組み合わせでより効果的に抑制する方法を確立することで、従来不可能であった治療抵抗性の精神疾患に対する画期的な治療手段の提供を図ろうとする試みである。

2. 研究の目的

これまで我々は、精神疾患の薬物療法における認知・行動異常の改善について、治療薬が神経細胞、および神経幹細胞に作用して、“神経保護効果”と“神経新生促進効果”を発揮し、脳の神経回路網の維持・修復を促進させることの重要性を明らかとしてきた。また、精神疾患モデル動物として胎児性アルコールスペクトラム障害（FASD）モデルに対する神経幹細胞の経静脈的移植が精神疾患モデル動物の不安・行動量の異常を改善させることを明らかとしてきた。

これらの背景、知見から、本研究は、統合失調症モデル動物を作製し、モデルに神経細胞保護・新生促進薬と神経幹細胞移植の両方を処置した際の、脳諸領域の神経回路網の変化と、モデルの認知・行動異常の変化を解析し、統合失調症障害の(社会的)認知障害に対する新たな治療法としての薬物・細胞 combined 療法の可能性を検討することを目的とした。

3. 研究の方法

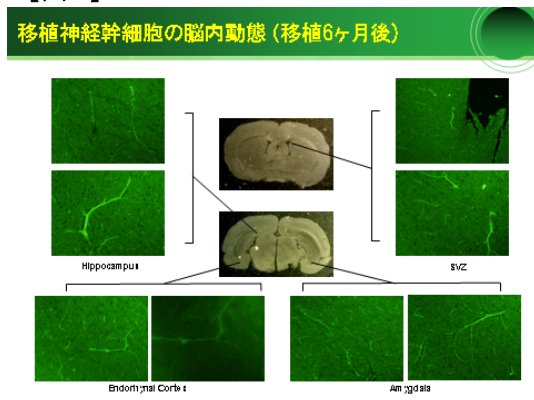
胎生期に poly I:C（ウイルス感染を mimic させる薬剤）を処置する方法による統合失調症モデルラットを作成した。① コントロール群、および作成した病態モデル群の一部に（蛍光、および RI）標識した神経幹細胞（胎児脳由来）を経静脈的に移植した。細胞移植による行動障害の改善効果について、新奇探索性認知・記憶評価装置を用いた認知・記憶

機能、および社会的コミュニケーションの機能等についての行動薬理的解析を実施した。また、② 移植細胞の脳移行、既存脳内神経ネットワークへの組み込みについて、社会的認知との強い関わりが指摘されている領域（前部帯状回、扁桃体、海馬）を含む脳諸領域の組織切片（移植 3～6 ヶ月後）を用いて、特に GABA 系ニューロン特異的抗体を用いた免疫化学的解析を実施した。加えて、③一部のモデル動物には、神経幹細胞移植と同時に、細胞の生存・分化促進効果を有することを明らかとした向精神薬としてオランザピンを投与し、移植した標識神経幹細胞の脳内動態について比較解析を実施した。

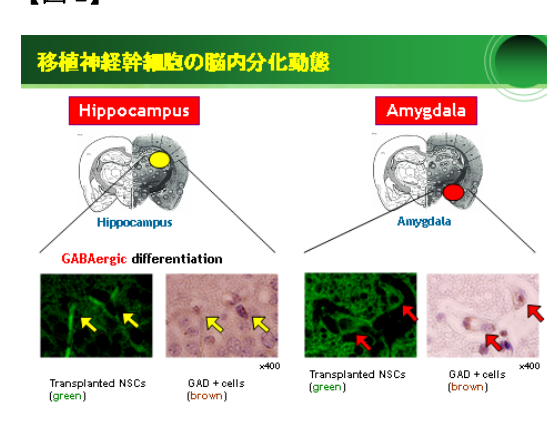
4. 研究成果

(1) 移植細胞の脳内移行性・分化動態解析
モデルラットに移植した標識神経幹細胞は、1 ヶ月～6 ヶ月以上の期間、前部帯状回、海馬、扁桃体を含む脳の諸領域に分布、生存し（図 1）、移植 2～3 ヶ月の脳内では、海馬、および扁桃体で GAD 陽性の細胞（GABAergic neuron）に分化・成熟していることを観察した（図 2）。

【図 1】



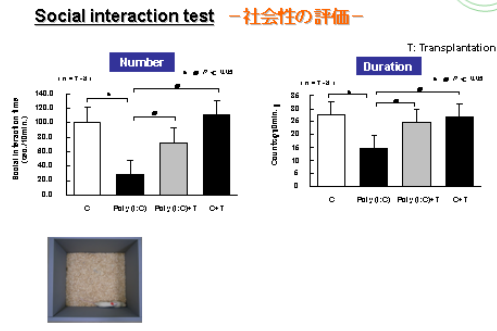
【図 2】



(2) 細胞移植による行動学的変化の解析
 Poly I:C 処置群では、新奇物体探索試験において記憶・認知機能，社会相互作用試験において社会コミュニケーションの各機能に異常を認めた。これに対し，モデル動物に神経幹細胞を移植した群では，その異常が正常対象群に近いレベルへ改善されることが分かった (図 3, 4)。

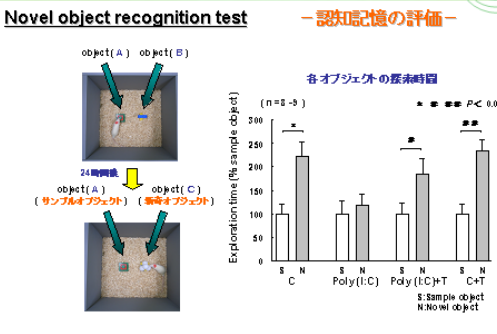
【図 3】

神経幹細胞移植による社会性機能の改善



【図 4】

神経幹細胞移植による認知・記憶機能の改善

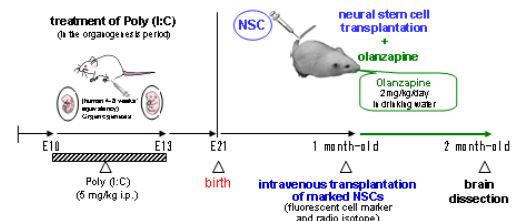


(3) 薬物・細胞 combined 療法の可能性
 幹細胞移植に抗精神病のオランザピンを併用処置することで，移植細胞がより高率で脳に移行・生存する可能性が示された (図 5, 6)。

【図 5】

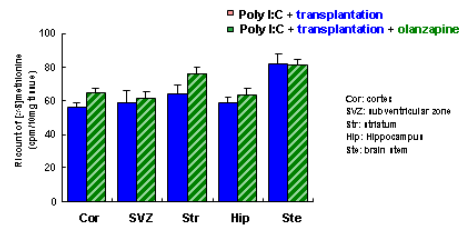
薬物・細胞 combined 療法の有効性の解析

combined therapy of stem cell transplantation and psychotropic drugs



【図 6】

移植神経幹細胞の脳内移行/生存
 -薬物併用処置による増強効果-



The transplanted NSCs showed a tendency to migrate effectively into the brain in the combined therapy group.

(考察)

神経幹細胞の静脈内移植によってなぜ個体の行動が変わるのかについては大変難しい課題であるが，今回の検討で，移植した細胞が脳内へ移行し，GABA 系を含む神経細胞フェノタイプに分化・発達していることが分かった。“社会的”認知機能については，近年の報告で，海馬，前部帯状回，扁桃体を含む脳領域における GABA 系インターニューロンの機能が重要な役割を担っていることが指摘されている。GABA 系インターニューロン (parvalbumin, somatostatin, calretinin, NPY 陽性細胞を含む) は，発生の初期において，基底核原基に産生され大脳皮質領域に移動することが示されているが，近年の研究から，生後の脳においても脳室周囲 (SVZ) 領域で産生され続け，皮質領域，および皮質下領域へ migrate していることが明らかとなってきた。これまでに申請者は，精神疾患モデルを用いた神経幹細胞移植療法の可能性の研究過程で，静脈に投与した標識神経幹細胞が移植後早期 (1-2 週間) には SVZ に蓄積し，その後各脳領域へ遊走し各部に生着していくことを観察している (移植後 1-6 ヶ月)。本研究の結果は，遊走し各領域の神経回路網に組み込まれた移植細胞の，少なくとも一部がこれらの GABA 系インターニューロンに分化し，その機能増強を通して他者とのコミュニケーション能力を含む，個体の社会的認知機能の回復に寄与しているのではないかと推察された。今後，移植細胞の機能発現を電気生理学的に解析するなどして，その脳神経回路への組み込みについてさらに詳細な解析を進めていきたいと考えている。

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 20 件)

- 1) Yamada M, Takahashi K, Ukai W, Hashimoto E, Saito T, Yamada. M. Neuroserpin is expressed in early stage of neurogenesis in adult rat hippocampus. Neuroreport. 2010; 21: 138-142 (有)
- 2) Ono T, Hashimoto E, Ukai W, Ishii T, Saito T. The role of neural stem cells for in vitro models of schizophrenia: Neuroprotection via Akt/ERK signal regulation. Schizophr Res. 2010; 122: 239-247 (有)
- 3) Watanabe K, Hashimoto E, Ukai W, Ishii T, Yoshinaga T, Ono T, Tateno M, Watanabe I, Shirasaka T, Saito S, Saito T. Effect of antidepressants on brain-derived neurotrophic factor (BDNF) release from platelets in the rats. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 2010; 34: 1450-1454 (有)
- 4) Tateno M, Kikuchi S, Uehara K, Fukita K, Uchida N, Sasaki R, Saito T. Pervasive Developmental Disorders and Autism Spectrum Disorders: Are These Disorders One and the Same? .Psychiatry Investigation 2010; 8: 67-70 (有)
- 5) 橋本恵理, 齋藤利和. 精神障害が併存するアルコール依存症の病態と治療 アルコール依存症と気分障害. 精神神経学雑誌 2010; 112: 780-786 (無)
- 6) 鶴飼渉, 橋本恵理, 吉永敏弘, 白坂知彦, 渡邊公彦, 渡邊一平, 金田博雄, 館農勝, 石井貴男, 齋藤利和. ストレスによる脳神経回路網変異 - 障害と修復の分子メカニズム -. ストレス科学 2010; 25: 167-177 (無)
- 7) Saito S, Watanabe K, Hashimoto E, Saito T. Low serum BDNF and food intake regulation: a possible new explanation of the pathophysiology of eating disorders. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2009; 33: 312-316 (有)
- 8) Kashem MA, Umehany R, Ukai W, Hashimoto E, Saito T, McGregor IS, Matsumoto I. Effects of typical (haloperidol) and atypical (risperidone) antipsychotic agents on protein expression in rat neural stem cells. Neurochem Int. 2009; 55: 558-565 (有)
- 9) 鶴飼渉, 橋本恵理, 石井貴男, 吉永敏弘, 渡邊公彦, 小野貴文, 館農勝, 渡邊一平, 白坂智彦, 齋藤利和. 気分障害における神経回路網の修復再生と認知機能. 臨床精神医学 2009; 38: 421-428 (無)
- 10) 橋本恵理, 鶴飼渉, 小野貴文, 齋藤利和. 非定型抗精神病薬の神経新生作用. 脳 21 2009; 12: 195-199 (無)
- 11) 橋本恵理, 吉永敏弘, 石井貴男, 齋藤諭, 鶴飼渉, 齋藤利和. アルコールによる脳障害に対する再生医療的アプローチの可能性. 日本アルコール・薬物医学会雑誌 2009; 44: 674-679 (無)
- 12) Ukai W, Ishii T, Hashimoto E, Tateno M, Yoshinaga T, Ono T, Watanabe K, Watanabe I, Shirasaka T, Saito T. The common aspects of pathophysiology of alcoholism and depression. 日本アルコール・薬物医学会雑誌 2009; 44: 704-711 (無)
- 13) Tateno M, Saito T. Biological studies on alcohol-induced neuronal damage. Psychiatry Investigation 2008; 5: 21-27 (有)
- 14) Ishii T, Hashimoto E, Ukai W, Tateno M, Yoshinaga T, Saito S, Sohma H, Saito T. Lithium-induced suppression of transcription repressor NRSF/REST: Effects on the dysfunction of neuronal differentiation by ethanol. Eur J Pharmacol 2008; 593: 36-43 (有)
- 15) 鶴飼渉, 橋本恵理, 吉永敏弘, 石井貴男, 館農勝, 小野貴文, 渡邊公彦, 齋藤諭, 齋藤利和. アルコールによる脳神経回路網の異常 神経幹細胞を用いた修復の試み. 日本神経精神薬理学雑誌 2008 ; 28 : 69-73 (無)
- 16) 館農勝, 齋藤利和. 神経新生と病態 薬物と神経新生 アルコール. Clinical Neuroscience 2008; 26: 899-901 (無)
- 17) 橋本恵理, 小野貴文, 渡邊公彦. 薬物と神経新生 向精神薬. Clinical Neuroscience 2008; 26: 887-889 (無)
- 18) 鶴飼渉, 橋本恵理, 齋藤利和. 新規抗精神病薬の開発動向. 脳と精神の医学 2008; 19: 173-179 (無)
- 19) 石井貴男, 橋本恵理, 鶴飼渉, 館農勝, 吉永敏弘, 小野貴文, 渡邊公彦, 齋藤諭, 齋藤利和. アルコールによる脳障害とエピジェネティクス制御機構. 日本アルコール・薬物医学会雑誌 2008; 43: 705-713 (無)
- 20) 鶴飼渉, 石井貴男, 吉永敏弘, 館農勝, 橋本恵理, 小野貴文, 渡邊公彦, 渡邊一平, 白坂智彦, 齋藤利和. アルコールによる脳神経回路網障害のメカニズムとその修復法の探索 神経細胞・神経幹細胞を用いた

in vitro, in vivo解析. 日本アルコール・薬物医学会雑誌; 2008: 43; 763-769 (無)

[学会発表] (計 28 件)

- 1) 白坂知彦, 鶴飼渉, 吉永敏弘, 木川昌康, 渡邊公彦, 渡邊一平, 金田博雄, 館農勝, 橋本恵理, 齋藤利和. 神経幹細胞移植によるFASDモデルラット「社会脳」再生の試み. 第10回日本再生医療学会総会, 3月1-2日, 東京, 2011
- 2) Saito T, Hashimoto E, Ukai W, Watanabe K, Watanabe I, Shirasaka T, Kaneta H, Kigawa M, Yoshinaga T, Tateno M, Park T, Ishii T. The Change of Brain-Derived Neurotrophic Factor and TrkB Receptor on Platelet in Depression. 49th ACNP, Dec 5-9, Florida, 2010
- 3) Ukai W, Watanabe I, Hashimoto E, Watanabe K, Shirasaka T, Kaneta H, Kigawa M, Ono T, Ishii T, Yoshinaga T, Tateno M, Kobayashi S, Saito T. The possible implication of TLX on the regulation of impulsive behavior: focusing on the neural stem cell dysfunctions by TLX change. 40th Neuroscience, Nov 13-17, San Diego, 2010
- 4) 渡邊一平, 鶴飼渉, 橋本恵理, 渡邊公彦, 白坂知彦, 小野貴文, 館農勝, 齋藤利和. 核内レセプター-TLXの神経幹細胞における働きと抑肝散の与える影響. 第32回日本生物学的精神医学会, 10月7-9日, 小倉, 2010
- 5) 渡邊公彦, 橋本恵理, 鶴飼渉, 吉永敏弘, 館農勝, 渡邊一平, 白坂知彦, 金田博雄, 木川昌康, 五十嵐健史, 齋藤利和. 末梢BDNFの体内動態を解明する. 第29回躁うつ病の薬理・生化学的研究懇話会, 6月18日, 箱根, 2010
- 6) Ukai W, Hashimoto E, Ono T, Yoshinaga T, Ishii T, Watanabe K, Watanabe I, Shirasaka T, Tateno M, Saito T. (Symposium) Effects of psychotropics on ER stress and its potential implication for the clinical effect. 17th CINP, June 6-10, Hong Kong, 2010
- 7) Hashimoto E, Ono T, Ukai W, Yoshinaga T, Ishii T, Watanabe K, Watanabe I, Shirasaka T, Tateno M, Saito T. Stem cell therapy - functional recovery in a neurodevelopmental model of schizophrenia. 17th CINP, June 6-10, Hong Kong, 2010
- 8) Watanabe I, Ukai W, Ono T, Watanabe K, Shirasaka T, Ishii T, Hashimoto E, Tateno M, Saito T. Roles of nuclear receptor TLX in neural stem cell functions. 17th CINP, June 6-10, Hong Kong, 2010
- 9) Watanabe K, Hashimoto E, Ukai W, Ishii T, Yoshinaga T, Tateno M, Watanabe I, Shirasaka T, Kaneta H, Kigawa Y, Saito T. The change of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and tyrosine kinase B (TrkB) receptor on platelet in depression. 17th CINP, June 6-10, Hong Kong, 2010
- 10) 鶴飼渉, 橋本恵理, 吉永敏弘, 白坂知彦, 石井貴男, 館農勝, 小野貴文, 渡邊公彦, 渡邊一平, 齋藤利和. (シンポジウム) ストレスによる脳神経回路網変異-障害と修復の分子メカニズム- 第25回日本ストレス学会学術総会, 第27回日本青年期精神療法学会総会合同大会, 12月4-5日, 横浜, 2009
- 11) Ukai W, Hashimoto E, Tateno M, Ono T, Watanabe K, Watanabe I, Shirasaka T, Yoshinaga T, Saito T. (Workshop) Endoplasmic reticulum stress and neurogenetic dysfunction in psychiatric disorder. 4th CSSI, Oct 6-9, Sapporo, Japan, 2009
- 12) Ishii T, Ukai W, Yoshinaga T, Tateno M, Ono T, Watanabe K, Watanabe I, Shirasaka T, Hashimoto E, Saito T. How do ethanol and depression impair neural stem cell? Dysregulation of CREB, NRSF/REST and TLX. 39th SfN, Oct 17-21, Chicago, 2009
- 13) Ukai W, Ono T, Hashimoto E, Yoshinaga T, Ishii T, Watanabe K, Watanabe I, Shirasaka T, Tateno M, Saito T. Stem cell therapy as a new treatment strategy for schizophrenia. 39th SfN, Oct 17-21, Chicago, 2009
- 14) 鶴飼渉, 小野貴文, 渡邊公彦, 橋本恵理, 吉永敏弘, 石井貴男, 館農勝, 渡邊一平, 白坂知彦, 齋藤利和. (シンポジウム) 末梢サイトカイン変化と精神疾患の病態について. 第52回日本神経科学大会, 6月21-24日, 群馬, 2009
- 15) 小野貴文, 鶴飼渉, 白坂知彦, 吉永敏弘, 橋本恵理, 石井貴男, 館農勝, 渡邊公彦, 渡邊一平, 齋藤利和. 神経細胞移植は統合失調症の慢性期症状を抑制する. 第52回日本神経科学大会, 6月21-24日, 群馬, 2009
- 16) 渡邊一平, 鶴飼渉, 小野貴文, 渡邊公彦, 白坂知彦, 橋本恵理, 石井貴男, 館農勝, 齋藤利和. 神経新生の変化における攻撃性・衝動性のメカニズム. 第52回日本神経科学大会, 6月21-24日, 群馬, 2009
- 17) 岩本和也, 文東美紀, 上田順子, 中野陽子, 鶴飼渉, 橋本恵理, 齋藤利和, 加藤

- 忠史. ヒト脳神経系細胞におけるDNAメチル化解析—全ゲノムメチル化量の定量とメチル化領域の個人間差異の検討—. 第31回日本生物学的精神医学会, 4月23—25日, 京都, 2009
- 18) 渡邊一平, 鶴飼渉, 小野貴文, 渡邊公彦, 白坂知彦, 橋本恵理, 石井貴男, 館農勝, 齋藤利和. 攻撃性・衝動性のメカニズムにおける神経新生異常の重要性に関する研究. 第18回神経行動薬理若手研究者の集い 3月19日, 横浜, 2009
- 19) Hashimoto E, Ukai W, Ono T, Yoshinaga T, Ishii T, Tateno M, Watanabe K, Saito T. (Symposium) The stem cell therapy as a possible new treatment for schizophrenia. 第4回日本統合失調症学会, 1月30—31日, 大阪, 2009
- 20) Bundo M, Iwamoto K, Nakano Y, Ueda J, Ukai W, Hashimoto E, Saito T, Kato T. DNA methylation analysis in the human brain: separation of neuronal and non-neuronal nuclei by cell sorting. 16th WCPG, Oct 11-15, Osaka Japan, 2008
- 21) Iwamoto K, Bundo M, Ueda J, Nakano Y, Ukai W, Hashimoto E, Saito T, Kato T. DNA methylation analysis in the human brain: promoter tiling array analysis of neuronal and non-neuronal nuclei. 16th WCPG, Oct 11-15, Osaka Japan, 2008
- 22) 吉永敏弘, 石井貴男, 鶴飼渉, 館農勝, 小野貴文, 渡邊公彦, 渡邊一平, 白坂知彦, 齋藤諭, 橋本恵理, 齋藤利和. 胎児期アルコール曝露モデルに対する神経幹細胞移植の試み. 第18回日本臨床精神神経薬理学会 第38回日本神経精神薬理学会合同年会, 10月1—3日, 東京, 2008
- 23) Tateno M, Kurosawa S, Ukai W, Hashimoto E, Ishii T, Yoshinaga T, Saito S. Saito T. (Symposium) Neuroprotective effects on atypical antipsychotics against ER stress-induced cell damage. 2nd WFSBP, Sep 11-13, Toyama, Japan, 2008
- 24) Ishii T, Yoshinaga T, Ukai W, Hashimoto E, Tateno M, Ono T, Watanabe K, Saito S. Saito T. (Symposium) translational research of repairing therapy for the damaged brain by ethanol. 2nd WFSBP, Sep 11-13, Toyama, Japan, 2008
- 25) 鶴飼渉, 吉永敏弘, 石井貴男, 橋本恵理, 小野貴文, 館農勝, 渡邊公彦, 渡邊一平, 白坂知彦, 向裕加, 齋藤諭, 齋藤利和. (シンポジウム) 精神疾患に対する幹細胞移植療法の可能性に関する研究. 第51回日本神経化学会, 9月12日, 富山, 2008
- 26) 小野貴文, 鶴飼渉, 石井貴男, 吉永敏弘, 渡邊公彦, 橋本恵理, 渡邊一平, 白坂知彦, 館農勝, 齋藤諭, 齋藤利和. 神経細胞および神経幹細胞ダメージに対する外来性神経幹細胞の効果. 第51回日本神経化学会, 9月12日, 富山, 2008
- 27) Saito T, Hashimoto E, Ukai W, Yoshinaga T, Ishii T, Tateno M, Ono T, Watanabe K, Saito S. (Symposium) New potential therapy of neural stem cell transplantation for repairing alcohol-induced brain damage. 16th CINP, July 13-17, Munich, Germany, 2008
- 28) Ukai W, Hashimoto E, Yoshinaga T, Ishii T, Tateno M, Ono T, Watanabe K, Saito S, Saito T. Possible new treatment of schizophrenia: A combined therapy of cells and drugs. 16th CINP, July 13-17, Munich, Germany, 2008

〔図書〕 (計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鶴飼 渉 (Ukai Wataru)

札幌医科大学・医学部・講師

研究者番号: 40381256

(2) 研究分担者

橋本 恵理 (Hashimoto Eri)

札幌医科大学・医学部・准教授

研究者番号: 30301401

館農 勝 (Tateno Masaru)

札幌医科大学・医学部・講師

研究者番号: 60464492

吉永 敏弘 (Yoshinaga Toshihiro)

札幌医科大学・医学部・助教

研究者番号: 70404704

小野 貴文 (Ono Takafumi)

札幌医科大学・医学部・研究員

研究者番号: 50438024

(3) 連携研究者

なし