

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年4月19日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22390226

研究課題名（和文） 免疫負荷うつ病モデルマウスを用いた、うつ病の関連脳部位と細胞傷害の解明

研究課題名（英文） Investigation of the brain and cell injury responsible for depression with immune-challenged animal model.

研究代表者

神庭 重信（KANBA SHIGENOBU）

九州大学・医学研究院・教授

研究者番号：50195187

研究成果の概要（和文）：うつ病の神経炎症仮説に基づき、グラム陰性菌の内毒素をマウスに投与して動物モデルを作成し、抑うつ行動と、脳室周囲器官周辺におけるミクログリアの活性化を確認した。また通常のマウスで、強制水泳試験の際に抗うつ薬の前投与によって賦活される部位を探索したところ、やはり同領域の一部が見いだされた。培養細胞では抗うつ薬の抗炎症作用を確認し、うつ病と神経炎症との関連についてさらに多くの知見を得た。

研究成果の概要（英文）：By systemic injection of bacterial endotoxin into mice, we generated an animal model of depression which showed depressive behavior and microglial activation in the regions around the periventricular organs. In another experiment on forced swim test, some parts of those regions showed neuronal activation correlated with behavioral activation by antidepressant. We also found anti-inflammatory effect of antidepressants in microglial cell line. The present results revealed previously unknown parts of close relationships between neuronal inflammation and depression.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	5,000,000	1,500,000	6,500,000
2011年度	4,500,000	1,350,000	5,850,000
2012年度	4,500,000	1,350,000	5,850,000
年度			
年度			
総計	14,000,000	4,200,000	18,200,000

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：うつ病、サイトカイン、精神疾患、神経科学、脳

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 我々は、これまで精神疾患の解明に向けて、神経免疫学的研究を続けてきた。初期には、ラットに拘束ストレスを負荷した際に、前視床下部においてinterleukin-1 $\beta$ が増加し、これがノルアドレナリンおよびACTHの代謝回転を促進することを見いだした（Shintani F et al, J Neuroscience 1993/1995）。また、interferonがヒトや動物に抑うつ状態を

誘発する機序として、ラット海馬ニューロン新生を抑制し、そのmediatorがIL-1 $\beta$ とTNFであることを見いだした（Kaneko N et al, Neuropsychopharmacology 2006）。我々はまた、抗うつ薬と抗精神病薬が、ミクログリア活性化抑制作用を有することを報告してきた（Kato T, et al, J Neurochem 2008; Kato T, et al, Schizophrenia Res 2007; Hashioka S, et al, Exp Neurology 2007 など）。

(2) 一方海外では、自殺者の死後脳 (Steiner J, et al, 2006; 2008) で、ミクログリアの活性化が認められている。うつ病患者の血清・CSF サイトカインが高値であるとの報告は数多くあり、向精神薬に抗炎症薬を付加することによって、うつ病の治療効果が増強されることも報告されている (Muller N et al, 2008)。

(3) これまで、心理・精神活動と脳内免疫細胞であるミクログリアとの相関は未知であった。しかし、我々の研究を含む一連の研究から、「ミクログリアの活性化が病的な心理・精神活動に深く関与している可能性」が想定されるに至っている。

## 2. 研究の目的

「うつ病では特定の脳部位で微細な神経炎症が起きているのではないか」という仮説 (神経炎症仮説) を立て、動物モデルを作成して脳病態を明らかにする。その動物モデルおよび培養細胞を用いて、明らかにされた脳病態を予防・修復する薬物を探索する。さらに、ヒトにおける画像所見との対応関係を探索する。

## 3. 研究の方法

(1) グラム陰性菌由来内毒素である lipopolysaccharide をマウスに腹腔内投与して、持続的な抑うつ行動が見られる条件を決定する。次に、その際に脳内で生じる変化について、免疫組織化学法を用いて探索する。抗 Iba-1 抗体で標識されるミクログリアの形態を主要な指標とする。

(2) 転写因子 c-Fos を標的とする免疫組織化学法により、抗うつ薬の行動試験 (強制水泳試験) の際に賦活される脳内部位、および抗うつ薬の効果と相関して賦活される部位を探索し、(1) の部位との関係を吟味する。

(3) 培養細胞を用いて、ミクログリアの活動に対し、抗うつ薬がどのような影響を与えるのかを評価する。

(4) 気分障害 (大うつ病性障害および双極性障害) 罹患者の脳について拡散テンソル画像を撮像する。

## 4. 研究成果

(1) lipopolysaccharide を用いて、免疫負荷によるうつ病の動物モデルを作成した。作成の過程では、マウスの系統によりストレス反応性が相当異なることが明らかになり、当初使用していた C57BL/6 系統を BALB/c 系統に変更することとなった。飼育条件や投与量も調整を行った結果、① 0.8mg/kg, i.p. の投与により、強制水泳試験での無動時間は、24 時間後および 48 時間後には有意な変化は見られなかったものの、7 日後の時点では有意に延長しており、体重の変化と負の相関を示した。② 同

じ条件で免疫組織化学を行うと、視床下部弓状核・腹内側核周辺、最後野・孤束核領域、およびその他の脳室周囲器官周辺領域において、ミクログリアの活性化 (抗 Iba-1 抗体で標識される面積の拡大として測定される) が、48 時間後まで遷延していることが確認された。

③ imipramine, CRFR1 アンタゴニストおよび minocycline を用いて、このモデルにおけるミクログリアの賦活および抑うつ行動の出現を抑制することを試みたが、期間中に試みた限りでは、抑制をもたらす投与条件を確立することはできなかった。

(2) (1) と同じ BALB/c 系統マウスを用いて、強制水泳試験の際に活性化される神経回路、および抗うつ薬 (imipramine 10 mg/kg) の前投与によって活性化される部位を、転写因子 c-Fos を標識として同定した。水泳によって賦活されるのは、外側中隔核 (腹側部・中間部)、水道周囲灰白質腹外側部、視床室傍核等の部位、抗うつ薬によって賦活されるのは、分界条床核背側外側部、水泳中のみ抗うつ薬によって賦活されるのは、視床下部弓状核、視床下部室傍核、分界条床核後内側部等の核であった。特に視床下部弓状核は、(1) でミクログリアの遷延性の賦活が確認された部位でもあり、抑うつ行動の形成と抗うつ効果の発現とに関与する可能性が示唆された。

(3) 抗うつ薬 パロキセチン・セルトラリンはインターフェロニン刺激ミクログリア (マウス 6-3 細胞株、及び、ラット初代培養ミクログリア) からの NO および TNF- $\alpha$  の産生を抑制した。SSRI の NO 産生抑制作用の細胞内メカニズムとしては、インターフェロニンによるミクログリア細胞内 Ca 濃度上昇を抑制し、その結果 JAK-STAT など細胞内シグナル伝達系の活性化が抑制される機序が考えられた。ミクログリア上にセロトニントランスポーターが発現していたが、これらは SSRI の NO 産生抑制作用に機能的な関わりを持たない可能性が考えられた。パロキセチン・セルトラリンはミクログリアからの炎症性サイトカイン・フリーラジカル産生を抑制することでうつ病に治療的に作用する可能性が考えられた。

(4) 画像研究としては、双極性障害 (22 人)、大うつ病性障害 (15 人)、計 37 人の気分障害罹患者について、MRI にて拡散テンソル画像を撮像した (解析中)。

## 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 12 件)

Kato TA, Kanba S. Are microglia minding us? Digging up the unconscious mind-brain relationship from a neuropsychanalytic



approach. *Front Hum Neurosci.* 2013;7:13. doi: 10.3389/fnhum.2013.00013. Epub 2013 Feb 4. PubMed PMID: 23443737; PubMed Central PMCID: PMC3580984.

Oribe N, Hirano Y, Kanba S, Del Re EC, Seidman LJ, Mesholam-Gately R, Spencer KM, McCarley RW, Niznikiewicz MA. Early and late stages of visual processing in individuals in prodromal state and first episode schizophrenia: An ERP study. *Schizophr Res.* 2013 Feb 19. doi:pii: S0920-9964(13)00053-4. 10.1016/j.schres.2013.01.015. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 23433503.

Abe M, Abe Y, Ohkuri T, Mishima T, Monji A, Kanba S, Ueda T. Mechanism for retardation of amyloid fibril formation by sugars in V $\lambda$ 6 protein. *Protein Sci.* 2013 Feb 7. doi: 10.1002/pro.2228. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 23389799.

Motomura K, Kanba S. Lost in translation: confusion about depression and antidepressant therapy in Japan. *Psychiatry Clin Neurosci.* 2013 Jan;67(1):1-2. doi: 10.1111/pcn.12011. PubMed PMID: 23331282.

Takata A, Iwayama Y, Fukuo Y, Ikeda M, Okochi T, Maekawa M, Toyota T, Yamada K, Hattori E, Ohnishi T, Toyoshima M, Ujike H, Inada T, Kunugi H, Ozaki N, Nanko S, Nakamura K, Mori N, Kanba S, Iwata N, Kato T, Yoshikawa T. A Population-Specific Uncommon Variant in GRIN3A Associated with Schizophrenia. *Biol Psychiatry.* 2013 Mar 15;73(6):532-9. doi: 10.1016/j.biopsych.2012.10.024. Epub 2012 Dec 11. PubMed PMID: 23237318.

Kato TA, Watabe M, Tsuboi S, Ishikawa K, Hashiya K, Monji A, Utsumi H, Kanba S. Minocycline modulates human social decision-making: possible impact of microglia on personality-oriented social behaviors. *PLoS One.* 2012;7(7):e40461. Epub 2012 Jul 13.

Oda Y, \*Onitsuka T, Tsuchimoto R, Hirano S, Oribe N, Ueno T, Hirano Y, Nakamura I, Miura T, Kanba S. Gamma band neural synchronization deficits for auditory steady state responses in bipolar disorder patients. *PLoS One.* 2012;7(7):e39955. Epub 2012 Jul 5

Tsunoda T, Kanba S, Ueno T, Hirano Y, Hirano S, Maekawa T, \*Onitsuka T. Altered face inversion effect and association between

face N170 reduction and social dysfunction in patients with schizophrenia. *Clin Neurophysiol.* 123(9):1762-8, 2012.

Watabe M, Kato TA, Monji A, Horikawa H, Kanba S. Does minocycline, an antibiotic with inhibitory effects on microglial activation, sharpen a sense of trust in social interaction? *Psychopharmacology (Berl).* 220(3):551-7, 2012.

Kato TA, Monji A, Yasukawa K, Mizoguchi Y, Horikawa H, Seki Y, Hashioka S, Han YH, Kasai M, Sonoda N, Hirata E, Maeda Y, Inoguchi T, Utsumi H, \*Kanba S. Aripiprazole inhibits superoxide generation from phorbol-myristate-acetate (PMA)-stimulated microglia in vitro: implication for antioxidative psychotropic actions via microglia. *Schizophr Res* 29(2-3):172-82, 2011.

Tsuchimoto R, Kanba S, Hirano S, Oribe N, Ueno T, Hirano Y, Nakamura I, Oda Y, Miura T, \*Onitsuka T. Reduced high and low frequency gamma synchronization in patients with chronic schizophrenia. *Schizophr Res.* 33(1-3):99-105, 2011.

Horikawa H, Kato TA, Mizoguchi Y, Monji A, Seki Y, Ohkuri T, Gotoh L, Yonaha M, Ueda T, Hashioka S, \*Kanba S. Inhibitory effects of SSRIs on IFN- $\gamma$  induced microglial activation through the regulation of intracellular calcium. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 34(7):1306-16, 2010.

[学会発表] (計 10件)

Kanba, S  
CINP Hong Kong, symposium, 2010.6  
“Innovations in the management of bipolar disorder”

Kanba, S  
8<sup>th</sup> International Diabetes Federation; Western Pacific Region Congress  
Prevalence of depression in metabolic syndrome: the Hisayama Study  
“Controversies and New Treatment of Diabetes”, October 18, 2010 Busan.

Kanba, S and Muller N  
10<sup>th</sup> WFSBP Prague, symposium chairman, 2011.5  
Neuroinflammatory pathology in schizophrenia and depression: From diagnosis

to treatment.

Yanagida S et al. Antidepressant effects in the forced swim test. 8<sup>th</sup> IBRO World Congress of neuroscience. 2011.7.14-18. Florence, Italy.

Ohashi A et al., Systemic lipopolysaccharide induces prolonged microglial activation in specific brain regions in mice. Asian College of Neuropsychopharmacology. 2011.9.23. Seoul, Korea

Kanba S  
WPA regional symposium in Kaoshung, symposium speaker  
Depression in Asia, 2011.11

Fry M A and Kanba S, symposium chair  
5<sup>th</sup> Biennial Conference of the International Society For Bipolar Disorders, Istanbul, Turkey, 2012.3  
Genomic and clinical phenotype considerations in evaluating antidepressant-induced mania to individualize the treatment for bipolar depression

Kanba S  
Taiwanese Society of Biological Psychiatry and Neuropsychopharmacology 2012  
Neuroinflammatory hypothesis of schizophrenia, invited speaker 2012.9.22

Kanba S  
World Psychiatric Association International Congress 2012 Prague, Czech  
Plenary lecture  
Neuroinflammatory hypothesis of schizophrenia 2012.10.20

Kanba S  
Depression In Asia, symposium  
Characteristics of depression in young Japanese.  
15<sup>th</sup> Pacific Rim College of Psychiatrists Scientific Meeting 2012.  
Seoul, Korea 2012.10.27

〔図書〕（計4件）

神庭重信、加藤忠史、脳科学エッセンシャル、精神疾患の生物学的理解のために、中山書店、2010

加藤敏、神庭重信、中谷陽二、武田雅俊、狩野力八郎、市川宏伸 編、現代精神医学事典、

弘文堂、2011

神庭重信、内海健 編著、「うつ」の構造、弘文堂、2011

樋口麻衣子、中尾智博、神庭重信  
成人精神医療からみた創発 OCD の特徴  
子どもの強迫性障害：診断・治療ガイドライン、齋藤万比古、金生由紀子、編、pp 268-274  
星和書店、2012.

〔産業財産権〕  
○出願状況（計0件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況（計0件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等  
なし

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者  
神庭 重信 (KANBA SHIGENOBU)  
九州大学・大学院医学研究院・教授  
研究者番号：50195187

(2) 研究分担者  
なし ( )

研究者番号：

(3) 連携研究者  
鬼塚俊明 (ONITSUKA TOSHIAKI)  
九州大学病院・講師  
研究者番号：00398059

本村啓介 (MOTOMURA KEISUKE)

九州大学病院・助教

研究者番号：60432944

三浦智史 (MIURA TOMOFUMI)

九州大学・大学院医学研究院・助教

研究者番号：90404053