

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 30 日現在

機関番号：20101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591679

研究課題名(和文)統合失調症の社会機能回復 - 薬物・細胞併用療法は言語・共感性の脳回路を修復するか -

研究課題名(英文) Social function recovery in schizophrenia: can combined therapy with drug and cells repair neural circuit of verbal memory and sympathy/empathy?

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)：統合失調症治療における重要な問題である、社会的機能の回復について、抗精神病薬が言語記憶と心の理論の神経回路に及ぼす影響を明らかにすることで、それを修復・再生する新たな治療手段を開発していくことを目指した。成体脳組織から調整した神経/グリア細胞を用いて、種々の非定型抗精神病薬が、いずれもMK-801で誘発される、NG2陽性細胞からGABA interneuronへの分化障害を抑制する効果を有すること、また、その作用にHSP90発現増加が関与することを突き止めた。薬剤の中には、oligodendrocyteへの分化も同時に促進させる作用を示すものもあり、その臨床効果の差異との関連に興味をもたれた。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to investigate the influence of antipsychotic on the neural circuit of verbal memory and theory of mind which has high impact on working and social function recoveries in schizophrenic patients and to link it to the development of the new regenerative strategy for psychiatric disease treatment. In the experiments using neural/glial stem cells derived from adult brain, it was revealed that all the tested atypical antipsychotics promoted NG2(+) cell differentiation to GABAergic interneuron inhibited by MK-801. As one of the candidate molecular mechanisms of this GABAergic interneuron promotion by antipsychotics, we have indicated the involvement of HSP 90 expression change. These results suggested that the increase of adult GABAergic interneurogenesis through HSP90 expression change might be involved in the mechanisms of neural network repair in the schizophrenic brain and cognitive function recoveries by the atypical antipsychotic treatments.

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 統合失調症 認知機能 神経再生 神経新生 細胞移植 再生医療 神経分化

科学研究費助成事業 研究成果報告書

1. 研究開始当初の背景

統合失調症では、幻覚・妄想などの陽性症状の問題に加え、注意、言語記憶、作業記憶、実行記憶、視覚・運動処理能力などの幅広い認知領域が障害されており、これが、患者の職業的・社会的復帰の妨げになっていることが指摘されています。特に、“言語性記憶”と、他者の心を察知し行動する“共感性・心の理論”の障害は、発症前の前駆期から存在し、病態とともに進行することが示され、治療上の重要な問題となっている。これらの“社会性認知機能障害”の神経学基盤は未だ不明ですが、最近の臨床学的知見から、統合失調症の第二代抗精神病薬は、第一世代の薬剤と比較して、この“社会性機能障害”の改善効果が高く、また、個々の薬剤が認知機能障害の異なったプロフィールを改善することが報告されている。しかしながら、各治療薬がどのような機序で特定の認知機能障害に影響を及ぼし得るのかについてはまだほとんど解明が進んでいない。

本研究では、こうした知見と、これまでの我々の研究結果を踏まえ、統合失調症における職業的・社会的機能回復を促進させる新たな方法を開発することを念頭に、“社会的認知機能障害”の神経回路を修復・再生する薬物の効果の機序を明らかとし、特に難治例に対する薬物・細胞併用療法の開発につなげて行くことを目指した。

2. 研究の目的

本研究では、統合失調症の社会・認知行動障害との関連が推察されている PV interneuron の減少・機能低下に着目しました。GABAergic interneuron は、発生初期において、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。SVZの細胞群で、このような機能を発揮しているものとして、NG2 proteoglycan 陽性の細胞が注目されている。NG2 陽性細胞は、oligodendrocyte 前駆細胞として知られてきたものであるが、近年、成体脳において、一部が GABAergic interneuron として分化し、皮質側へ遊走していることが報告されており、我々は、まず始めに、成体脳 GABAergic interneuron 産生に及ぼす抗精神病薬の影響について検討することとした。

3. 研究の方法

成体ラット SVZ 領域の組織から、幹細胞を培養・増殖させた。EGF, bFGF, PEDF を含む培地を用いて neurosphere 法で7日間ほど培

養した細胞を、分散後、培地内の増殖因子を除去し、代わりに(神経分化を促進させる目的で)BDNFを加えた分化条件培地にて monolayer 法で播きなおした。播き直し直後の細胞は、ほぼ全てが Nestin, および NG2 陽性だったが、3日間の分化条件での培養で、oligodendrocyte のマーカー蛋白である olig2, および PV 陽性の細胞数が増加した(図2)。実験では、この olig2, および PV 陽性細胞数の変化に及ぼす、MK-801 (NMDA 受容体拮抗薬: in vitro 統合失調症モデル障害として使用), および抗精神病薬の影響について評価した。実験プロトコールと、分化条件での細胞群の割合の変化を図3に示した。BDNFを加えた3日間の培養で, Tuj-1 (Neuron), olig2 (oligodendrocyte), GAD67 (GABAergic neuron), PV (GABAergic interneuron) 陽性細胞それぞれの、割合の増加が観察された。

図2 実験方法

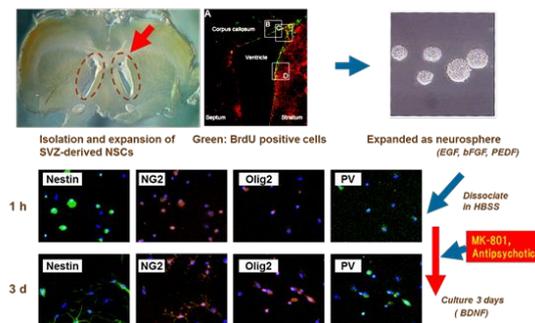
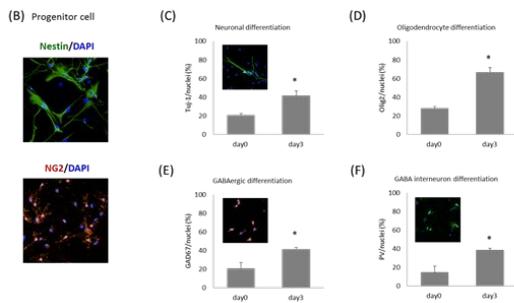


図3 (A) Experimental timeline. At DIV 0, cells are in suspension (EGF, FGF2, PEDF) for proliferation. At DIV 10, they are in adhesion (BDNF) for differentiation. MK801 is added at DIV 10. The timeline shows the transition from NG2(+) cell to Oligodendrocyte and GABAergic neuron.



4. 研究成果

(1) NG2 陽性細胞の分化に及ぼす MK-801 および抗精神病薬の影響。MK-801 の処置は、NG2 陽性細胞の GABAergic interneuron 分化を抑制し、一方、oligodendrocyte 分化には影響を及ぼさないことが分かった(図4)。そこで、この MK-801 処置による NG2 陽性細胞分化変化に及ぼす抗精神病薬の影響について評価した。まず、抗精神病薬の併用処置の影響を調べた結果、検討した 3 つの抗精神病薬、olanzapine, aripiprazole, および

blonanserin は、いずれも MK-801 による GABAergic interneuron への分化障害を抑制する効果を示した (図 5)。一方、oligodendrocyte への分化については、aripiprazole、および blonanserin の処置によっては影響を受けなかったが、olanzapine の処置は、oligodendrocyte への分化を増強する効果を有することが明らかとなった (図 6)。ここまでの研究で、成体脳においても、oligodendrocyte、および GABA 系 interneuron の新生を担っている NG2 陽性細胞の分化機能が、NMDA antagonist の処置によって変化し、その GABAergic interneuron の産生のみが特異的に減少することが示された。NG2 陽性細胞は、SVZ のみならず海馬でも新たな GABAergic interneuron の新生に関わっていることが知られており、こうした変化と統合失調症の脳病態との関連が推察された。また、検討した 3 つの非定型抗精神病薬は、いずれも MK-801 による PV 陽性の GABAergic interneuron の分化障害を抑制する効果を示したが、なかでも、Olanzapine は oligodendrocyte への分化も同時に促進させる作用を示したことから、この違いが薬剤の臨床効果の違い、特に、社会的認知機能の回復効果の違いにどのように関わるかについて興味もたれた。

図4 NG2(+) cell 分化に及ぼすMK-801の影響

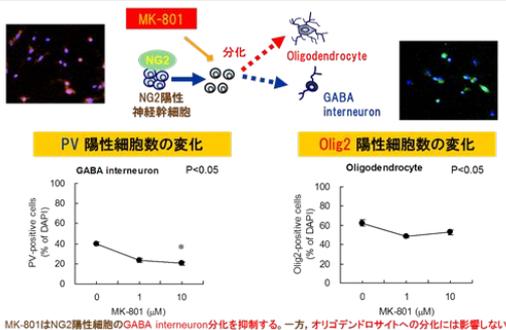


図5 GABA interneuron分化に及ぼす抗精神病薬の影響

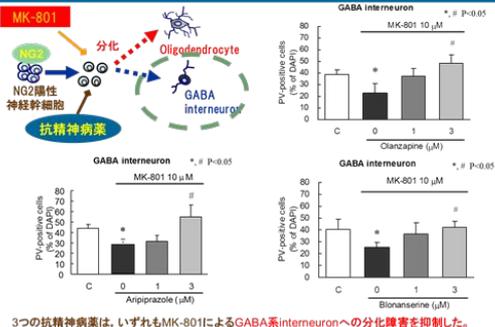
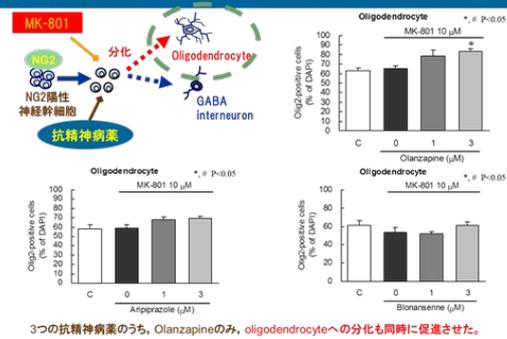


図6 Oligodendrocyte分化に及ぼす抗精神病薬の影響



(2) 非定型抗精神病薬の GABAergic interneuron 産生増加効果のメカニズム

この問題について、次に我々は、heat shock protein の 1 つ、HSP90 の発現変動の関与に着目して検討を進めた。近年の研究で、HSP90 については、抗精神病薬 aripiprazole の処置によって PC12 細胞の突起伸長促進効果の発現に関与すること、また、その血中抗体濃度変化が、統合失調症の病態と治療効果に相関すること、が報告されている。そこで、上記の評価系を用いて、抗精神病薬処置による GABAergic interneuron 産生促進効果における HSP90 の発現変動の関与について調べた。初めの検討で、NG2 陽性細胞への MK-801 の処置が、HSP90 の発現を用量依存的に低下させることが分かった (図 7)。そこで、この MK-801 による HSP90 発現低下に対する非定型抗精神病薬の影響について評価した結果、olanzapine、aripiprazole、および blonanserin のいずれの薬剤も、NG2 陽性細胞における HSP90 の発現低下を抑制する効果を有することが判明した。また、一方、定型抗精神病薬 haloperidol の処置は、他の薬剤とは全く逆で、HSP90 の発現を低下させることが分かった (図 8)。我々は、この変化が、統合失調症治療薬の、特に、認知機能・社会性機能回復効果と深く関わると推察し、現在、HSP90 選択的阻害剤を用いた検討を実施するなど、より詳しいメカニズム解析を進めている。

図7 統合失調症の病態と薬剤の効果における Hsp90α/β Protein 変化の関与

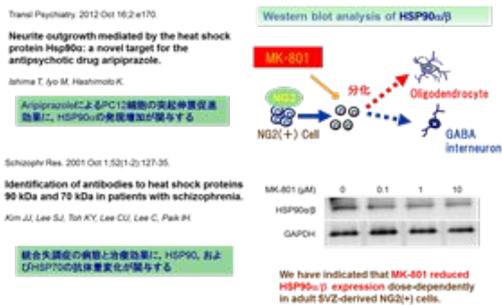
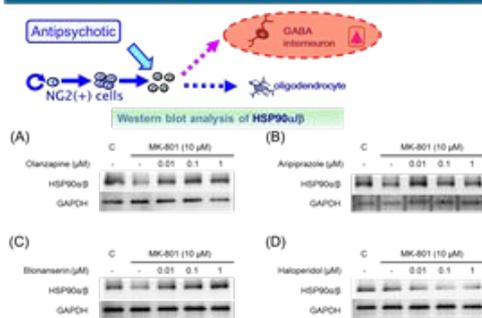


図8 第2/3世代抗精神病薬によるHSP90 α の発現変化



(考察)

本研究で進めた、薬物や細胞による成体神経新生促進の可能性の知見は、治療に難渋している難治性の精神疾患の根本的な治療に希望をもたらすものであるばかりでなく、精神疾患について、生涯終えることのない脳の発達という新たな生物学的側面から、その病態解析の見直しを迫るものともなっています。成体脳においても常時内在性の神経再生能が備わっており、例えばSVZの神経新生が抗精神病薬で促進されるといった事実が判明したとはいっても、それらの神経機構は多様な調節の上で成り立っており、臨床学的により有用なレベルでの脳神経系の自己再生能の増強のためには、薬物に加え、運動やリハビリテーションなど、多種類の働きかけを組み合わせることの重要性が推察される。また、生理的な神経再生機構の存在が明らかになったことによって、その再生機構自体の異常が精神疾患の病態メカニズムに関与している可能性が考えられ、遺伝的問題をクリアする手法の確立も必要と思っています。

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)

- 1) Kigawa Y, Hashimoto E, Ukai W, Ishii T, Furuse K, Tsujino H, Shirasaka T, Saito T. Stem cell therapy: a new approach to the treatment of refractory depression. J Neural Transm 2014; [Epub ahead of print] (有)
- 2) 鷓飼 渉. アルコール性脳障害とうつ病に対するトランスレーショナルリサーチの展望 - 病態解明と診断の観点から -. 日本生物学的精神医学会誌 2014; 25: 24-26 (無)
- 3) Hashimoto T, Yamada M, Iwai T, Saitoh A, Hashimoto E, Ukai W, Saito T, Yamada M. Plasticity-related gene 1 is important for survival of neurons derived from rat neural stem cells. J Neurosci Res 2013; 91: 1402-1407 doi: 10.1002/jnr.23269. Epub 2013 Aug 30 (有)
- 4) Yoshinaga T, Hashimoto E, Ukai W, Ishii T, Shirasaka T, Kigawa Y, Tateno M, Kaneta H, Watanabe K, Igarashi T, Kobayashi S, Sohma H, Kato T, Saito T. Effects of atelocollagen on neural stem cell function and its migrating capacity into brain in psychiatric disease model. J Neural Transm 2013; 120: 1491-1498 doi: 10.1007/s00702-013-1010-4. (有)
- 5) Shirasaka T, Hashimoto E, Ukai W, Yoshinaga T, Ishii T, Tateno M, Saito T. Stem cell therapy: social recognition recovery in a FASD model. Transl Psychiatry 2012; 2: e188 doi: 10.1038/tp.2012.111. (有)
- 6) Ahmed EU, Ahmed S, Ukai W, Matsumoto I, Kemp A, McGregor IS, Kashem MA. Antipsychotic induced alteration of growth and proteome of rat neural stem cells. Neurochem Res 2012; 37: 1649-1659 doi: 10.1007/s11064-012-0768-3. (有)
- 7) 鷓飼 渉, 小野 貴文, 橋本 恵理, 金田 博雄, 白坂 知彦, 五十嵐 健史, 木川 昌康, 渡邊 公彦, 吉永 敏弘, 石井 貴男, 館 農勝, 小林 清樹, 齋藤 利和. 統合失調症の脳神経回路修復 薬物・細胞コンバインド療法の可能性の検討. 日本生物学的精神医学会誌 2012; 23: 109-114 (無)
- 8) Iwai T, Saitoh A, Yamada M, Takahashi K, Hashimoto E, Ukai W, Saito T, Yamada M. Rhotekin modulates differentiation of cultured neural stem cells to neurons. J Neurosci Res 2012; 90: 1359-1366 doi: 10.1002/jnr.23029. (有)
- 9) 齋藤 利和, 鷓飼 渉, 白坂 知彦, 橋本 恵理, 吉永 敏弘, 金田 博雄, 五十嵐 健史, 渡邊 公彦, 館 農勝, 石井 貴男. 経静脈的神経幹細胞移植による FASD モデルラットの行動異常改善と脳神経回路シナプス形成の修復. アルコールと医学生物学 2012; 31: 40 (無)
- 10) Liu Y, Sakamoto H, Adachi M, Zhao S, Ukai W, Hashimoto E, Hareyama M, Ishida T, Imai K, Shinomura Y. Heat stress activates ER stress signals which suppress the heat shock response, an effect occurring preferentially in the cortex in rats. Mol Biol Rep 2012; 39: 3987-3993 doi: 10.1007/s11033-011-1179-2. (有)
- 11) Iwamoto K, Bundo M, Ueda J, Oldham MC,

- Ukai W, Hashimoto E, Saito T, Geschwind DH, Kato T. Neurons show distinctive DNA methylation profile and higher interindividual variations compared with non-neurons. *Genome Res* 2011; 21: 688-696 (有)
- 12) Shirasaka T, Ukai W, Yoshinaga T, Watanabe K, Kaneta H, Kigawa Y, Igarashi T, Tateno M, Hashimoto E, Saito T. Promising therapy of neural stem cell transplantation for FASD model--neural network reconstruction and behavior recovery. *Nihon Arukoru Yakubutsu Igakkai Zasshi* 2011; 46: 576-584 (無)
- [学会発表](計9件)
- 1) 鷓飼 渉, 橋本 恵理, 石井 貴男, 木川 昌康, 古瀬 健吾, 辻野 華子, 吉永 敏弘, 齋藤 利和. (シンポジウム) 薬物療法と神経新生・神経回路修復. 第26回日本総合病院精神医学会総会: 2013年11月29-30日: 京都
- 2) Ukai W, Kaneta H, Kigawa Y, Hashimoto E, Ishii T, Furuse K, Kakutani Y, Imai T, Tsujino H, Kobayashi S, Saito T. Atypical antipsychotics promote GABA interneurogenesis in the adult brain: implication of HSP production. 43rd Annual Meeting of The Society for Neuroscience (SfN): 2013 Nov 9-13, San Diego, California
- 3) Ukai W, Hashimoto E, Shirasaka T, Ishii T, Yoshinaga T, Kaneta H, Kigawa Y, Tateno M, Kobayashi S, Saito T. [Symposium] Understanding of mechanisms underlying brain abnormality in FASD and its translational approach. 14th Congress of ESBRA: 2013 September 8-11: Warsaw
- 4) 鷓飼 渉, 金田 博雄, 橋本 恵理, 木川 昌康, 白坂 知彦, 石井 貴男, 今井 智之, 小林 清樹, 吉永 敏弘, 館 農勝, 齋藤 利和. (シンポジウム) 統合失調症の成体脳神経産生機構に対する薬物・細胞投与の影響に関する研究. 第8回日本統合失調症学会: 2013年4月19-20日: 浦河
- 5) Ukai W, Kaneta H, Hashimoto E, Igarashi T, Kigawa Y, Shirasaka T, Watanabe K, Yoshinaga T, Tateno M, Ishii T, Saito T. The effect of antipsychotics on GABAergic interneurogenesis in adult brain. 28th Collegium Internationale Neuro-Psychopharmacologicum (CINP) Congress: 2012 June 3-7: Stockholm, Sweden
- 6) Ukai W, Shirasaka T, Hashimoto E,

- Kaneta H, Igarashi T, Watanabe K, Yoshinaga T, Tateno M, Ishii T, Saito T. [Symposium] Cell-based therapy for alcohol-induced brain damage. The 2nd Congress of Asia-Pacific Society for Alcohol and Addiction Research (APSAAR): 2012 February 6-8: Bangkok
- 7) Saito T, Hashimoto E, Ukai W, Shirasaka T, Yoshinaga T, Tateno M. Characteristic of plasticity facilitated by intravenous neural stem cell transplantation in FASD model. 50th Anniversary of ACNP Meeting: 2011 December 4-8: Hawaii
- 8) Kaneta H, Ukai W, Hashimoto E, Yoshinaga T, Tateno M, Watanabe K, Shirasaka T, Igarashi T, Ishii T, Saito T. The effect of antipsychotics in interneurogenesis of adult neural stem cells. The 41st annual meeting of the Society of Neuroscience: 2011 Nov 12-16: Washington, D.C., U.S.A.
- 9) Ukai W, Shirasaka T, Hashimoto E, Yoshinaga T, Kaneta H, Kigawa Y, Igarashi T, Watanabe K, Tateno M, Ishii T, Saito T. Promotion of interneurogenesis by neural stem cell transplantation in FASD model. 13th Congress of European Society for Biomedical Research on Alcoholism: 2011 September 4-7: Vienna, Austria.

[図書](計2件)

- 1) 鷓飼 渉, 石井 貴男, 橋本 恵理. 幹細胞療法と精神疾患. 糸川 昌成 監. メンタル医療. 東京: シーエムシー出版; 2013. pp193-200.
- 2) 鷓飼 渉. 気分障害と幹細胞. 躁うつ病の薬理・生化学的研究懇話会編. 気分障害の薬理・生化学. 大阪: 医薬ジャーナル社; 2012. Pp145-158.

[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

鷓飼 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

金田 博雄 (KANETA Hiroo)
札幌医科大学・医学部・研究員
研究者番号：80581149

安宅 弘司 (ATAKA Koji)
札幌医科大学・医学部・講師
研究者番号：30563358

(3)連携研究者

()

研究者番号：