

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 26 日現在

機関番号：85402

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591686

研究課題名(和文)ファーマコプロテオミクスを用いた抗うつ薬のグリアにおける新規標的分子の同定

研究課題名(英文) Identification of novel targets of antidepressant on glia by using pharmacoproteomics

研究代表者

竹林 実 (Takebayashi, Minoru)

独立行政法人国立病院機構(呉医療センター臨床研究部)・その他部局等・その他

研究者番号：60304440

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：モノアミン神経をターゲットとした抗うつ薬の開発は限界に来ている。グリア、特に抗うつ薬効果に関連の深い神経栄養因子(GDNFやFGF-2など)を多く貯蔵するアストロサイトにおける抗うつ薬の分子薬理メカニズムを明らかにした。抗うつ薬はアストロサイトにおいて、モノアミンとは関係なく、GDNFやFGF-2の発現を増加させた。その経路はMMP-チロシンキナーゼ-ERK-CREBのシグナルカスケードを介し、ファーマコプロテオミクスを用いて5つの標的候補蛋白を同定した。このようなグリアを標的とした抗うつ薬特異的な分子およびカスケードがさらに今後特定できれば、視点の異なった抗うつ薬開発に貢献できると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Development of antidepressant based on monoamine neuron hypothesis is facing limit. Glia, especially astrocytes, are major in the CNS and play a role of storage for several types of neurotrophic factors such as GDNF and BDNF, which are implicated in antidepressant effects. We revealed the pharmacological mechanism of antidepressant effect on astrocytes. The expression of GDNF and FGF-2 by antidepressant in astrocytes was regulated by monoamine-independent mechanism. We also found five antidepressant-related candidates directly targeting astrocytes by using pharmacoproteomics, and that the pathway of neurotrophic factors expression was involved in the MMP-Tyrosine kinase-ERK-CREB cascade. Identification of specific antidepressant-targeting protein and cascade on astrocytes may contribute to development of antidepressant from a different viewpoint.

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：抗うつ薬 グリア アストロサイト 神経栄養因子 創薬

1. 研究開始当初の背景

モノアミン神経をターゲットとした抗うつ薬の開発は限界に来ている。大きく視点を変えた創薬が求められている。グリア、特にアストロサイトはうつ病の治療に関与する各種神経栄養因子・成長因子を貯蔵する新しいターゲットの候補と考えられる。申請者たちはアストロサイトにおいて、抗うつ薬の神経栄養因子の発現増加作用を報告し、誘導作用は、モノアミン非依存性であることを報告している。

2. 研究の目的

アストロサイトにおける、抗うつ薬の神経栄養因子誘導性の直接作用部位と、その分子メカニズムを明らかにする。

3. 研究の方法

ラットグリア細胞株 (C6 細胞)、ラット初代培養アストロサイト、ヒト正常アストロサイト (NHA) を用いて、神経栄養因子 (GDNF や FGF-2 など) の発現を指標として、機能的アプローチとして、主に薬理学的手法および分子生物学的手法 (siRNA 干渉法など) を用いて、抗うつ薬の作用シグナルカスケードを明らかにする。また、直接的アプローチとして抗うつ薬リガンドを作成して、抗うつ薬に親和性の高い蛋白質をアフィニティークロマトグラフィーおよびプロテオミクスの手法を用いて候補分子を検出する。

4. 研究成果

抗うつ薬はアストロサイトにおいて、モノアミンとは関係なく、GDNF や FGF-2 の発現を増加させ、その経路は MMP - チロシンキナーゼ - ERK - CREB のシグナルカスケードを介し、ファーマコプロテオミクスを用いて5つの標的候補蛋白を同定した。このようなグリアを標的とした抗うつ薬特異的な分子およびカスケードがさらに今後特定できれば、視点の異なった抗うつ薬開発に貢献できると考えられる。

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9件)

Tsuchioka M, Hisaoka K, Yano R, Shibasaki C, Kajitani N, Takebayashi M: Riluzole-induced glial cell line-derived neurotrophic factor production is regulated through fibroblast growth factor receptor signaling in rat C6

glioma cells. *Brain Research* 1384:1-8, 2011.

Hisaoka K, Tsuchioka M, Yano R, Maeda N, Kajitani N, Morioka N, Nakata Y, Takebayashi M: Tricyclic antidepressant amitriptyline activates fibroblast growth factor receptor (FGFR) signaling in glial cells: Involvement in glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) production. *Journal of Biological Chemistry* 286:21118-28, 2011.

Kajitani N, Hisaoka-Nakashima K, Morioka N, Okada-Tsuchioka M, Kaneko M, Kasai M, Shibasaki C, Nakata Y, Takebayashi M.

Antidepressant acts on astrocytes leading to an increase in the expression of neurotrophic/growth factors: differential regulation of FGF-2 by noradrenaline.

PLoS One:7:e51197. doi: 10.1371/journal.pone.0051197, 2012

Boku S, Nakagawa S, Takamura

N, Kato A, Takebayashi M, Hisaoka-Nakashima K, Omiya Y, Inoue T, Kusumi I

GDNF facilitates differentiation of the adult dentate gyrus-derived neural precursor cells into astrocytes via STAT3

Biochemical and Biophysical Research Communications 434:779-784, 2013.

Boku S, Hisaoka-Nakashima K, Nakagawa S, Kato A, Kajitani N, Inoue T, Kusumi I, Takebayashi M, Tricyclic antidepressant amitriptyline indirectly increases the proliferation of adult dentate gyrus-derived neural precursors: an involvement of astrocytes.

PLoS One 18;8:e79371. doi:

10.1371/journal.pone.0079371, 2013.

竹林 実 :

うつ病のグリア仮説と創薬の可能性について

精神科 20:625-631, 2012

竹林 実

グリアから見た精神疾患

精神神経学雑誌 115:1186-1193, 2013

竹林 実

気分障害におけるグリア仮説と創薬にむけた試み

広島医学 66:611-612, 2013

竹林 実

グリアを標的とした新規抗うつ薬創薬

Depression Frontier 11:110-119, 2013

[学会発表](計12件)

Hisaoka K, Okada-Tsuchioka M, Yano R, Kajitani N, Morioka N, Nakata Y, Takebayashi M:

Antidepressants activate expression of fibroblast growth factor receptor (FGFR) signaling in glial cells: Involvement in glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) production.

41th Annual Meeting of Society for Neuroscience, Washington DC, November, 2011

Hisaoka K, Takebayashi M, Okada-Tsuchioka M, Yano R, Kajitani N, Morioka N, Nakata Y;

Antidepressants activate expression of fibroblast growth factor receptor (FGFR) signaling in glial cells: Involvement in glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) production.

2nd Congress of Asian College of

Neuropsychopharmacology Jointly with 2011 Annual Meeting of KCNP in Seoul, Korea, September, 2011

Kajitani N, Hisaoka K, Kaneko M, Kasai M, Yano R, Okada-Tsuchioka, Morioka N, Takebayashi M, Nakata Y;

The increase of FGF-2 expression by amitriptyline and noradrenaline could be mediated different mechanisms in rat primary cultured astrocytes.

2nd Congress of Asian College of Neuropsychopharmacology Jointly with 2011 Annual Meeting of KCNP in Seoul, Korea, September, 2011

Kajitani N, Hisaoka-Nakashima K, Morioka N, Okada-Tsuchioka, Shibasaki C, Kaneko M, Kasai M, Nakata Y, Takebayashi M;

Distinct regulation of fibroblast growth factor-2 expression by antidepressant and noradrenaline in rat cortical astrocytes.

42th Annual Meeting of Society for Neuroscience, New Orleans, October, 2012

Boku S, Hisaoka-Nakashima K, Nakagawa S, Kato A, Kajitani N, Inoue T, Takebayashi M; Tricyclic antidepressant amitriptyline indirectly increases the proliferation of adult dentate gyrus-derived neural precursor cells through inducing FGF2 secretion from astrocyte.

51th Annual Meeting of American College of Neuropsychopharmacology, Florida, December, 2012

Boku S, Hisaoka-Nakashima K, Nakagawa S, Kato A, Kajitani N, Inoue T, Kusumi M, Takebayashi M; Tricyclic antidepressant amitriptyline indirectly increases the proliferation of adult dentate gyrus-derived

neural precursor cells through inducing FGF2 secretion from astrocyte.43th Annual Meeting of Society for Neuroscience, San Diego, November, 2013

Takebayashi M:

Antidepressants act directly on astrocytes: role of neurotrophic factor expression

11th World Congress of Biological Psychiatry, Kyoto, June, 2013

梶谷直人、久岡一恵、葛西美穂、森岡徳光、仲田義啓、竹林 実

抗うつ薬はラット初代培養アストロサイトにおいて FGF-2 の発現を誘導する

第 84 回日本薬理学会 2011 年 3 月 23 日 (東京)

細井茉由、岡田麻美、梶谷直人、矢野遼也、柴崎千代、久岡一恵、森岡徳光、仲田義啓、竹林 実

ラット大脳皮質アストロサイトにおいて、amitriptyline による FGF-2 の発現は複数の受容体型チロシンキナーゼを介して調節される

第 85 回日本薬理学会年会 2012 年 3 月 14-16 日 (京都)

金子将弘、久岡一恵、梶谷直人、葛西美穂、岡田麻美、森岡徳光、竹林 実、仲田義啓

抗うつ薬がラット初代培養アストロサイトの BDNF exon mRNA の発現に及ぼす効果

第 85 回日本薬理学会年会 2012 年 3 月 14-16 日 (京都)

中島 (久岡) 一恵、矢野遼也、安部裕美、岡田麻美、梶谷直人、森岡徳光、竹林 実、仲田義啓

三環系抗うつ薬 amitriptyline によるグリア細胞株由来神経成長因子 (GDNF) 産生機構におけるマトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) の関与

第 42 回日本神経精神薬理学会・第 22 回日本臨床精神神経薬理学会 2012 年 10 月 18-20 日 (栃木)

中島 (久岡) 一恵、金子将弘、葛西美穂、梶谷直人、安部裕美、森岡徳光、柴崎千代、仲田義啓、竹林 実、

初代培養ラット大脳皮質アストロサイトにおいて三環系抗うつ薬アミトリプチリンは MEK/ERK カスケードを介して BDNF exon mRNA の発現を調節する

第 36 回日本神経科学大会・第 56 回日本神経化学学会大会・第 23 回日本神経回路学会大会・合同大会 (Neuro2013) 2013 年 6 月 20-23 日 (京都)

〔図書〕(計 1 件)

竹林 実

気分障害のグリア仮説から創薬へ向けて

気分障害の薬理・生化学 - うつ病の脳内メカニズム研究: 進歩と挑戦 - 躁うつ病薬理生化学研究懇話会編 医薬ジャーナル社 大阪, 2012

〔産業財産権〕

なし

〔その他〕

ホームページ等

呉医療センター 中国がんセンター 精神科

<http://gw1.kure-nh.go.jp/department/psychiatry/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

竹林 実 (TAKEBAYASHI MINORU)

国立病院機構呉医療センター 精神科・臨床研究部 科長・室長

研究者番号: 60304440

(2) 研究分担者

仲田義啓 (NAKATA YOSHIHIRO)

広島大学薬学部 教授

研究者番号: 40133152