

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 5月23日現在

機関番号：15401

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2011～2012

課題番号：23790297

研究課題名（和文）抗うつ薬の新規標的分子としての線維芽細胞増殖因子（FGF）受容体の機能解析

研究課題名（英文）The effect of antidepressant on Fibroblast growth factor (FGF) receptor, as a novel therapeutic target for major depression.

研究代表者

中島 一恵（久岡 一恵）（NAKASHIMA KAZUE）（HISAOKA KAZUE）

広島大学・大学院医歯薬保健学研究院・助教

研究者番号：20393431

研究成果の概要（和文）：

抗うつ薬の新たな標的分子として、グリア細胞に存在する線維芽細胞増殖因子（Fibroblast growth factor ; FGF）受容体に着目し、抗うつ薬による FGF 受容体活性化機構が、いかにして抗うつ薬の治療効果に寄与するかを明らかとすることを目的として研究を行った。三環系抗うつ薬（アミトリプチリン）がマトリックスメタロプロテアーゼによる内因性 FGF-2 の遊離を介して FGF 受容体を活性化することを抗うつ薬のモノアミンとは関連しない新規薬理作用として発見し報告した(Hisaoka K et al., J Biol Chem 286(24): 21118-21128, 2011)。

研究成果の概要（英文）：

In this study, I examined the effect of amitriptyline (a tricyclic antidepressant) on the Fibroblast growth factor (FGF) receptor in glia. I reported that the amitriptyline-induced FGF receptor activation is occurred by FGF-2 shedding through matrix metalloproteinase activation (Hisaoka K et al., J Biol Chem 286(24): 21118-21128, 2011).

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：精神薬理学

科研費の分科・細目：基礎医学・薬理学一般

キーワード：抗うつ薬・グリア

1. 研究開始当初の背景

従来、抗うつ薬はシナプス間隙のモノアミン量を増加することで治療効果を発揮すると考えられてきた。しかしながら、脳内の細胞外モノアミン濃度は抗うつ薬の投与数時間後に増加するのに対し、臨床における治療効果発現までには数週間の慢性投与が必要とされ、抗うつ薬の治療効果発現メカニズムは未だ明らかとされていない。近年、脳機能画像解析研究の進歩により、海馬組織の委縮や脳の特定部位におけるグリア細胞の減少などの形態学的異常とうつ病との関係が報告されている。さらに、抗うつ薬が神経新生促進作用 (Santarelli et al., 2003)

や神経栄養因子群（脳由来神経栄養因子；Brain-derived neurotrophic factor (BDNF)、グリア細胞由来神経栄養因子；Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF)、線維芽細胞増殖因子；Fibroblast growth factor (FGF)など）増加作用も併せもつことが報告された (Schmidt et al., 2008)。したがって、うつ病患者でみられる脳の形態学的異常に対して、抗うつ薬が神経新生や神経栄養因子群を介して可塑的变化を促す結果、治療効果を発現する可能性が注目されている。

そこで我々は、グリア細胞のうつ病における重要性の観点から、グリア細胞由来

神経栄養因子 (GDNF) の抗うつ薬との関連に着目し研究を行った。臨床でうつ病の治療に用いられている複数の種類の抗うつ薬が、グリア細胞からの GDNF 産生を増加させることを報告し (Hisaoka et al., 2001)、この作用はモノアミン受容体拮抗薬で抑制されないことから、従来抗うつ薬の薬理作用と考えられているモノアミンとは関連のない新規の薬理作用を介していることを明らかにした (Hisaoka et al., 2007)。研究開始当初までに、モノアミンに依存しない抗うつ薬の新規薬理作用は、FGF 受容体を活性化することにより生じている可能性を明らかにしていた。しかしながら、その薬理的意義やメカニズム等の詳細は明らかではなかった。

本研究は、抗うつ薬の新たな標的分子としてグリア細胞に存在する FGF 受容体に着目し、抗うつ薬による FGF 受容体活性化機構が、いかにして抗うつ薬の治療効果に寄与するかを明らかにすることを目的とした。

FGF 受容体は中枢神経系において幅広く発現しており、神経細胞とグリア細胞の両方に発現が認められている。近年、うつ病患者死後脳において、FGF 受容体と FGF 受容体リガンドが健常対照群と比較して低下しているとの報告がなされた (Evans et al., 2004)。また、ラットに FGF 受容体リガンドを脳室内投与すると、強制水泳試験において抗うつ効果を示すという報告がある (Turner et al., 2008)。これらの報告から、FGF 受容体およびリガンドが、情動などの高次脳機能にも深く関与することが推測される。したがって、我々のこれまでの研究結果と合わせると、FGF 受容体およびリガンドはうつ病の新しい治療ターゲットになる可能性が期待された。

一方臨床研究で、我々はうつ病患者の血液中 GDNF 量が健常対照群と比較して有意に低下していることを報告し (Takebayashi et al., 2006)、国内外の他の研究者からも、うつ病患者死後脳および血液における GDNF の低下が報告されている (Michel et al., 2008; Otsuki et al., 2008; Zhang et al., 2008)。したがって、GDNF の産生に重要な役割を果たす FGF 受容体および関連する細胞内情報伝達系がうつ病の病因・病態に関連する可能性も推測された。

2. 研究の目的

近年、抗うつ薬が脳の可塑性に作用することが知られ、治療効果との関連が注目されている。そこで、抗うつ薬の新たな標的分子として、グリア細胞に存在する FGF 受容体に着目し、抗うつ薬による FGF 受容体活性化機構が、いかにして抗うつ薬の治療効果に寄与するかを明らかにすることを目的とした。本研究結果より、抗うつ薬の治療効果お

よびうつ病の病因・病態と FGF 受容体との関連を見出すことができれば、これまでとは全く異なる視点から次世代の抗うつ薬の創薬およびうつ病の診断・治療マーカー開発にアプローチできる可能性が期待できる。

3. 研究の方法

課題 1、グリア細胞における抗うつ薬処置による FGF 受容体活性化機構の検討

我々が使用可能なグリア細胞 (正常ヒトアストロサイト、ラット初代培養グリア、グリア由来ラット C6 細胞) を用いて、三環系抗うつ薬 (アミトリプチリン) 処置による FGF 受容体活性化に関与する細胞内情報伝達分子を同定した。

- ① アミトリプチリン処置による FGF 受容体活性化における内因性 FGF 受容体リガンドの関与を、ヘパリン (FGF 受容体リガンドに高親和性を示すため、リガンドの受容体への結合を阻害する) を用いて検討した。FGF 受容体リガンドの関与を確認後、特異的中和抗体を用いて、リガンドのサブタイプを同定した。
- ② アミトリプチリン処置による FGF 受容体活性化機構を検討するために、FGF 受容体活性化に関連する分子群 (マトリックスメタロプロテアーゼ、Na/K-ATPase、G タンパク質など) の阻害薬および選択的 siRNA を用いて、アミトリプチリン処置により誘導される FGF 受容体活性化よりも上流に位置するカスケードの同定と各分子の重要性を検索した。
- ③ FGF 受容体の下流の細胞内情報伝達分子 (FRS2 α 、ERK、CREB など) のリン酸化を、ウェスタン法で定量し、アミトリプチリンによる FGF 受容体活性化後のカスケードを決定した。

課題 2、うつ病の診断・治療マーカーとしての血液中 FGF 受容体リガンド量の有用性に関する検討

対象は呉医療センター・精神科でうつ病と診断された患者群と、年齢・性について統制された同数の健常対照群である。被験者からは研究参加に関して十分な説明を行った上で文書による同意を得た (呉医療センター倫理委員会：承認番号 19-12)。

- ① 研究協力者 (呉医療センター精神科・臨床研究部 竹林 実 科長・室長) の支援により血液サンプルを収集した。
- ② 健常者 (男性および女性) 血液サンプル (血清、血漿、全血) を用い FGF 受容体リガンド測定的基础検討を行った。
- ③ 平成 23-24 年度にかけて収集された血液サンプルは匿名化かつ患者情報がブライント化された状態で、FGF 受容体リガンドの量を ELISA キットで測定し、患者群と健常対照群を比較した。
- ④ 患者群において、病態・抗うつ薬服用量・病歴・家族歴と血液中 FGF 受容体リガ

ド量との関連を解析した。

4. 研究成果

1、グリア細胞において三環系抗うつ薬（アミトリプチリン）誘導性 FGF 受容体活性化にはマトリックスメタロプロテアーゼによる内因性 FGF-2 の遊離が関与することを確認し、抗うつ薬のモノアミンとは関連のない新規薬理作用として報告した (Hisaoka K et al., J Biol Chem 286(24): 21118-21128, 2011)。さらに、グリア細胞に発現するマトリックスメタロプロテアーゼのサブタイプ (MMP-2, MMP-3, MMP-9) を同定した。今後は抗うつ薬の作用に関与するマトリックスメタロプロテアーゼのサブタイプとその役割を特異的な阻害薬や siRNA を用いて探索する予定である。

2、グリア細胞（ラット初代培養アストロサイト）においてアミトリプチリンがモノアミン非依存性の新規薬理作用を介して FGF-2 の発現を増加させることを報告した (Kajitani N et al., PLoS One 7(12): e51197, 2012)。今後はアミトリプチリンのモノアミン非依存性新規薬理作用を解明するとともに、抗うつ薬によるグリア細胞からの FGF-2 産生が、いかにして抗うつ効果をもたらすのか動物レベルで検証する予定である。

3、研究協力者らの支援により研究参加に関して十分な説明を行った上で文書による同意を得られたうつ病患者の血液サンプルを数例収集し、FGF-2 を測定した。今後はさらにサンプル数を増やして、健常者群との比較検討を行う予定である。

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 4 件）

1. Boku Shuken, Nakagawa Shin, Takamura Naoki, Kato Akiko, Takebayashi Minoru, Hisaoaka-Nakashima Kazue, Omiya Yuki, Inoue Takeshi, Kusumi Ichiro., GDNF facilitates differentiation of the adult dentate gyrus-derived neural precursor cells into astrocytes via STAT3., Biochem Biophys Res Commun., 査読有, in press.

2. Kajitani Naoto, Hisaoaka-Nakashima Kazue, Morioka Norimitsu, Okada-Tsuchioka Mami, Kaneko Masahiro, Kasai Miho, Shibasaki Chiyo, Nakata Yoshihiro, Takebayashi Minoru., 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(12), 査

読有, 2012, e51197.

3. Hisaoaka Kazue, Tsuchioka Mami, Yano Ryouya, Maeda Natsuko, Kajitani Naoto, Morioka Norimitsu, Nakata Yoshihiro, Takebayashi Minoru., Tricyclic antidepressant amitriptyline activates fibroblast growth factor receptor signaling in glial cells: involvement in glial cell line-derived neurotrophic factor production., J Biol Chem., 286(24), 査読有, 2011, pp21118-21128.

4. Tsuchioka Mami, Hisaoaka Kazue, Yano Ryouya, Shibasaki Chiyo, Kajitani Naoto, Takebayashi Minoru., Riluzole-induced glial cell line-derived neurotrophic factor production is regulated through fibroblast growth factor receptor signaling in rat C6 glioma cells., Brain Res., 1384, 査読有, 2011, pp1-8.

〔学会発表〕（計 12 件）

1. Boku Shuken, Hisaoaka-Nakashima Kazue, Nakagawa Shin, Kato Akiko, Kajitani Naoto, Inoue Takeshi, Takebayashi Minoru., 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 ACNP, 2-6 December 2012, Florida U. S. A.

2. 中島（久岡）一恵, 矢野遼也, 安部裕美, 岡田麻美, 柴崎千代, 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栄養因子 (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 22 回日本臨床精神神経薬理学会・第 42 回日本神経精神薬理学会合同年会, 2012 年 10 月 18-20 日, 宇都宮

3. Kajitani Naoto, Hisaoaka-Nakashima Kazue, Morioka Norimitsu, Okada-Tsuchioka Mami, Shibasaki Chiyo, Kaneko Masahiro, Kasai Miho, Nakata Yoshihiro, Takebayashi Minoru., Distinct regulation of fibroblast growth factor-2 expression by antidepressant and noradrenaline in rat cortical astrocytes., 42th Annual Meeting of Society for Neuroscience, 13-17 October 2012, New Orleans U. S. A

4. 金子将大, 中島（久岡）一恵, 梶谷直人,

葛西美穂, 重藤貴大, 森岡徳光, 竹林 実, 仲田義啓, ラット初代培養アストロサイトにおいて抗うつ薬が BDNF exon mRNA 発現に及ぼす作用, 第 121 回日本薬理学会近畿部会 2012 年 6 月 29 日, 徳島

5. 細井菜由, 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

6. 金子将大, 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

7. Hisaoka Kazue, Okada-Tsuchioka Mami, Yano Ryouya, Kajitani Naoto, Morioka Norimitsu, Nakata Yoshihiro, Takebayashi Minoru., 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, 12-16 November 2011, Washington DC U. S. A.

8. Okada-Tsuchioka Mami, Takebayashi Minoru, Segawa Masashi, Hosoi Mayu, Kajitani Naoto, Shibasaki Chiyo, Yano Ryouya, Hisaoka Kazue, Morinobu Shigeru., Electroconvulsive seizure (ECS) increases thrombospondin-1 (TSP-1) expression in the adult rat hippocampus., 41th Annual Meeting of Society for Neuroscience, 12-16 November 2011, Washington DC U. S. A.

9. 矢野遼也, 久岡一恵, 細井菜由, 岡田麻美, 柴崎千代, 梶谷直人, 森岡徳光, 竹林 実, 仲田義啓, 抗うつ薬によるグリア細胞株由来神経栄養因子 (GDNF) 産生機構の解明: マトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) の関与, 第 120 回日本薬理学会近畿部会, 2011 年 11 月 11 日, 京都

10. Hisaoka Kazue, Takebayashi Minoru, Okada-Tsuchioka Mami, Yano Ryouya, Kajitani Naoto, Morioka Norimitsu, Nakata Yoshihiro., 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, 23-24 September 2011, Seoul Korea.

11. Kajitani Naoto, Hisaoka Kazue, Kaneko Masahiro, Kasai Miho, Yano Ryouya, Okada-Tsuchioka Mami, Morioka Norimitsu, Takebayashi Minoru, Nakata Yoshihiro., 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, 23-24 September 2011, Seoul Korea.

12. 梶谷直人, 久岡一恵, 金子将大, 葛西美穂, 矢野遼也, 岡田麻美, 竹林 実, 森岡徳光, 仲田義啓, 抗うつ薬は初代培養アストロサイトから FGF-2 を産生する, 第 119 回日本薬理学会近畿部会, 2011 年 7 月 8 日, 名古屋

[その他]
ホームページ等

<http://home.hiroshima-u.ac.jp/pha/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中島 一恵 (久岡 一恵)
(NAKASHIMA KAZUE)
広島大学・医歯薬保健学研究院・助教
研究者番号: 20393431

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号: