

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 7 日現在

機関番号：20101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461737

研究課題名(和文) 神経新生と血小板機能の接点に着目したアルコール関連気分障害の新規診断マーカー開発

研究課題名(英文) The development of biological marker for alcohol-induced mood disorders: focusing on the functional alteration of platelet and neural stem cell

研究代表者

石井 貴男 (ISHII, Takao)

札幌医科大学・医学部・助教

研究者番号：40404701

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、アルコール大量摂取による脳障害と気分障害の共通する病態基盤について、血小板細胞と神経幹細胞に共通する機能変化という視点から検討を行った。アルコールを血小板に処置するによって、血小板からの脳由来神経栄養因子(BDNF)遊離は抑制されることが示された。また、アルコールの併用処置が抗うつ薬(sertraline)による遊離促進効果を抑制することが認められた。FITCをラベルしたBDNFは、神経新生が行われる部位である海馬歯状回に取り込まれることが観察された。

研究成果の概要(英文)：In this study, we investigated the common pathophysiology of alcohol-induced brain damage and mood disorders, focusing on the functional alteration of platelet and neural stem cell. We examine the effects of ethanol and antidepressants on the platelet BDNF release. Ethanol suppressed platelet BDNF release and the promotive effect of antidepressant on BDNF release. Furthermore, we investigated the transfer of BDNF derived from serum (or platelet) to the brain using fluorescent-labeled BDNF. We have detected BDNF-FITC in the cells at dentate gyrus in the hippocampus in which adult neurogenesis occurs.

研究分野：精神医学

キーワード：アルコール 気分障害 脳由来神経栄養因子 血小板

1. 研究開始当初の背景

精神科の臨床において、アルコール多飲が気分障害、特にうつ病を引き起こすことが多いこと、気分障害患者がアルコールを多飲することによって症状が悪化することがよく知られている。このように臨床的にアルコールと気分障害は密接な関係があると考えられていることに加え、近年の生物学的研究においても、アルコールによる脳障害と気分障害に共通の生物学的基盤が存在する可能性を強く示唆する報告も多い。うつ病の病態仮説として、うつ病の発症時における海馬の神経新生抑制に神経栄養因子、特に脳由来神経栄養因子 (BDNF) の発現低下が関与しており、抗うつ薬・電気痙攣療法などの治療はこの BDNF を増やすことで、障害された神経新生が回復し、うつ症状を改善するという神経可塑性異常仮説が従来のモノアミン仮説などに取って代わって注目を集めている。一方、海馬の神経新生抑制は、アルコール依存症においてもうつ病と同様に見られることがこれまでに報告されており、神経新生の抑制すなわち神経幹細胞の機能異常の存在が両疾患に共通の生物学的基盤として推察されている。

申請者らも、気分障害(うつ病)とアルコールによる脳障害の共通する病態基盤として、神経新生の異常が非常に重要であると考え、その機序について検討を行ってきた。これまでに、アルコール依存症とうつ病の死後脳を用いた研究で、栄養因子のシグナル伝達経路の一つである cAMP 情報伝達系の抑制的变化を報告してきた。また、アルコールによる神経分化抑制作用のメカニズムに関して、神経分化に大きく関与するとされる転写抑制因子 NRSF/REST の活性および蛋白質発現がアルコールによって増加することを報告した。また、このようなアルコールによる神経新生抑制は、抗うつ効果を有する薬剤であるリチウムが転写抑制因子 NRSF/REST の作用を介して回復させることも示した。加えて、気分障害との関連が指摘されている細胞内小器官である小胞体の機能に、アルコールも影響を及ぼすことを見出し、小胞体の機能変化が転写抑制因子 NRSF/REST の作用を介して神経新生を抑制することを明らかにした。

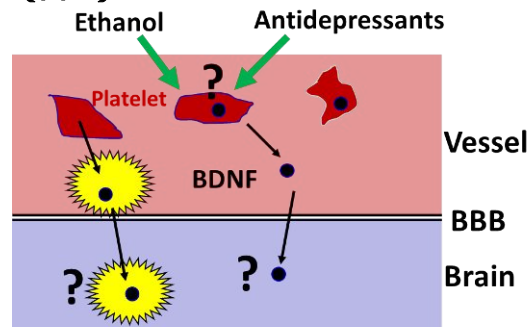
一方、血液あるいは血球細胞をソースとして用いた精神疾患の生物学的マーカーの開発もこれまで多くの研究が報告されている。神経新生と関連の深い脳由来神経栄養因子 (BDNF) は、これまでに気分障害のうつ病相あるいは躁病相において、寛解期よりも血清における濃度が低下することが報告され、気分障害の生物学的マーカーとして期待されている。最近では、血小板内にも BDNF が存在することがわかっており、申請者らも抗うつ薬の処置が血小板内の BDNF を放出させることを報告した (Watanabe K et al. Prog Neuropsychopharmacol Biol

Psychiatry, 2010)

2. 研究の目的 (図 1)

本研究は、アルコール大量摂取による脳障害と気分障害の共通する病態基盤について、血小板細胞と神経幹細胞に共通する機能変化という視点から検討を行うものである。アルコールがおよび抗うつ薬が、血小板の持つ BDNF の取り込み・遊離機能の変化に与える影響を調べる。また、血小板細胞から放出された BDNF が神経新生の行われる部位である海馬への取り込みについても検討を行う。

(図 1)



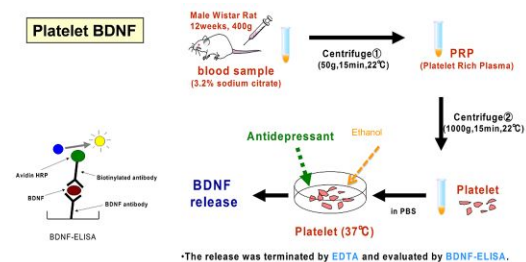
3. 研究の方法

実験動物 (生後 12 週の雄 Wistar Rat) より血小板を採取して以下の解析を行う。

アルコールと抗うつ薬による血小板内の脳由来神経栄養因子 (BDNF) の遊離機能の変化 (図 2):

血小板にアルコールを処置して、血小板の BDNF 遊離がどのように変化するかを調べる。また、抗うつ薬をアルコールに併せて処置して検討も行う。BDNF の測定は、ELISA 法を用いた。

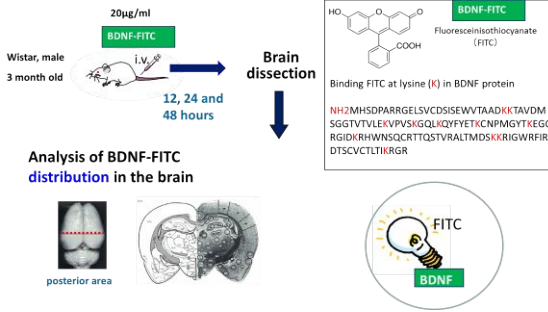
(図 2)



血小板の BDNF 取り込み機能についての検討および血中 BDNF から海馬への移行についての検討 (図 3):

蛍光物質である FITC をラベルした BDNF を実験動物から得られた血小板に処置し、12・24・48 時間後に観察する。次に、FITC をラベルした BDNF を実験動物に頸静脈的に投与し、12・24・48 時間後にそれぞれ脳を取り出し、切片を観察する。

(図3)

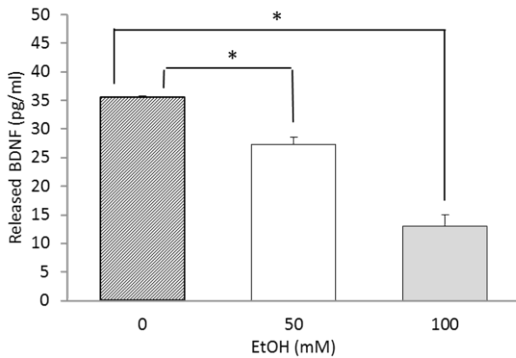


4. 研究成果

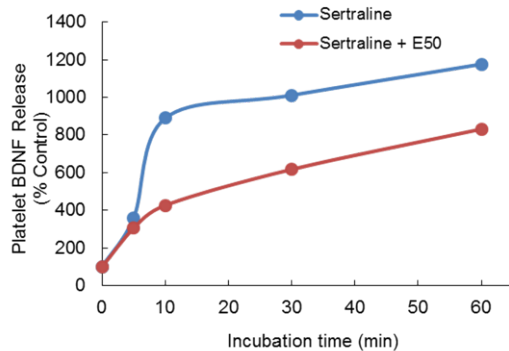
(1) アルコールと抗うつ薬による血小板内の脳由来神経栄養因子(BDNF)の遊離機能の変化

実験動物から得られた血小板にアルコールを処置して、血小板から遊離される BDNF の量を ELISA 法にて測定した。アルコール濃度は、神経幹細胞の生存には影響しないが、神経新生を抑制する濃度 (100nM 以下) を用いた。図4に示すように、アルコールの処置によって、血小板からの BDNF 遊離は抑制されることが示された。また、アルコールの併用処置が抗うつ薬 (sertraline) による遊離促進効果を抑制することが認められた。(図5)

(図4)



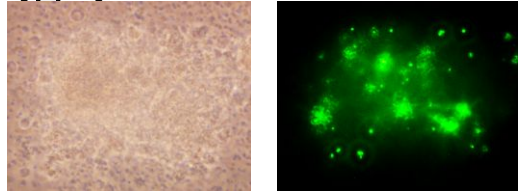
(図5)



(2) 血小板の BDNF 取り込み機能についての検討および血中 BDNF から海馬への移行についての検討

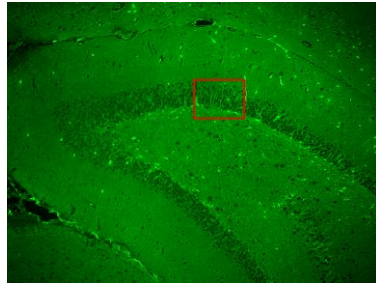
蛍光物質である FITC をラベルした BDNF を実験動物から得られた血小板に処置し、12・24・48 時間後に観察した。図6に処置後 12 時間後の血小板を示す (左の写真は光学顕微鏡、右の写真は、蛍光顕微鏡での画像)。このように、血小板は BDNF を貯蔵、遊離するだけでなく、取り込むことも示された。

(図6)

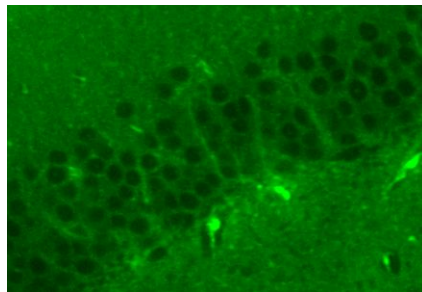


次に、FITC をラベルした BDNF を実験動物に頸静脈的に投与し、12・24・48 時間後にそれぞれ脳を取り出し、脳切片の観察を行った。図7は、処置後 12 時間後での海馬を示す。図8は、図7の で囲った部位の拡大像で、神経新生が行われる部位である、海馬歯状回を示す。このように、FITC をラベルした BDNF は、海馬歯状回に取り込まれることが観察された。

(図7)



(図8)



近年の研究から、各種サイトカインの産生機能を含む末梢血血小板の機能変化と、脳の神経回路の維持・修復能との密接な関係が推察されてきている。精神疾患の病態における末梢血サイトカイン量の変化の生物学的意義についてはまだ不明な点が多いが、今回の検討を含め、気分障害やアルコールによる脳障

害の患者由来血小板の機能変動と、各種治療薬の治療反応性とを個別に解析することで、病態の診断方法や治療薬の有効性に関する新たな手段の開発につながることを期待される。

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 5件)

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. (査読有)

石井貴男, 橋本恵理, 齋藤利和: アルコール性気分障害の臨床. 臨床精神医学 2013;42:1027-1034. (査読無)

齋藤利和, 橋本恵理, 石井貴男. アルコール関連問題の今日的課題. 臨床精神医学 2013;42:1079-1083. (査読無)

Ishii T, Hashimoto E, Ukai W, Kakutani Y, Sasaki R, Saito T. Characteristics of attempted suicide by patients with schizophrenia compared with those with mood disorders: a case-controlled study in northern Japan. PLoS One. 2014 8;9(5):e96272. (査読有)

鵜飼渉, 辻野華子, 古瀬研吾, 木川昌康. アルコールと脳神経疾患. 細胞 2015;47:693-696. (査読無)

[学会発表](計 5件)

石井貴男, 鵜飼渉, 渡邊公彦, 木川昌康, 橋本恵理, 齋藤利和. 抗うつ薬とアルコールがもたらす末梢血血小板からの脳由来神経栄養因子遊離の変化/ Alcohol and antidepressants alter BDNF release from platelet in the peripheral blood. 第36回日本神経学会, 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/ Neuro 2013年6月20-23日, 国立京都国際会館, 京都市
Hashimoto E, Ukai W, Ishii T, Watanabe K, Shirasaka T, Kaneta H, Kigawa Y, Yoshinaga T, Tateno M, Saito T. Usage of peripheral-derived cytokine as a marker and treatment approach for neural plasticity change in alcohol-induced brain damage and depression. WFSBP Congress of Biological Psychiatry June 23-27: Kyoto International conference center, Kyoto, Japan 2013.

鵜飼渉, 石井貴男, 橋本恵理, 木川昌康, 古瀬研吾, 辻野華子, 今井智之, 吉永敏弘, 齋藤利和. 気分障害とアルコール性脳障害の共通基盤: 末梢血血小板からのBDNF遊離反応の解析から. 平成25年度アルコール薬物依存関連学会合同学術総会 2013年10月3-5日, 岡山コンベンションセンター, 岡山市

Ishii T, Ukai W, Kigawa Y, Furuse K, Kakutani Y, Hashimoto E, Saito T. Alcohol reduces the effect of antidepressants on platelet BDNF release. Society for Neuroscience Nov 9-13: San Diego, USA, 2013.

Ukai W, Furuse K, Kigawa Y, Tsujino H, Ishii T, Tayama M, Iwamoto T, Shiraishi M, Inoue K, Kobayashi S, Hashimoto E, Kawanishi C. Stem cell therapy approach for refractory psychiatric disease. Korean Society for Biochemistry and Molecular Biology. May 12-14, Seoul, Korea, 2015.

[図書](計 1件)

鵜飼渉, 石井貴男, 橋本恵理. 幹細胞療法と精神疾患. メンタル医療 - 原因解明と診断, 治療の最前線 - . P193-200. シーエムシー出版(東京) 2013

[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: 無

6. 研究組織

(1)研究代表者

石井 貴男 (ISHII TAKAO)

札幌医科大学・医学部・助教

研究者番号: 40404701

(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

松山 清治 (MATSUYAMA KIYOJI)

札幌医科大学・保健医療学部・教授

研究者番号: 40209664

鵜飼 渉 (UKAI WATARU)

札幌医科大学・医学部・講師

研究者番号: 40381256

相馬 仁 (SOUMA HITOSHI)

札幌医科大学・医療人育成センター・教授

研究者番号: 70226702