

令和 3 年 6 月 14 日現在

機関番号：20101
 研究種目：基盤研究(C)（一般）
 研究期間：2018～2020
 課題番号：18K07569
 研究課題名（和文）難治性うつ病の新規治療法開発を目指す-幹細胞による脳神経細胞リモデリング解析

研究課題名（英文）New therapeutic strategy for refractory depression: analysis of neuron remodeling using stem cell treatment

研究代表者
 木川 昌康 (Kigawa, Yoshiyasu)
 札幌医科大学・医学部・助教

研究者番号：50581146
 交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：治療抵抗性を示す難治性うつ病に対する新たな治療法の確立を目的として、胎生期にアルコール暴露，さらに青年期にcorticosteroneを投与する二重ストレス暴露による難治性うつ病モデルラットを作成し，薬物，およびBM-MSC投与による，社会性機能（ソーシャルインタラクション行動），および共感性機能（他者救援行動）に対する行動学解析を行った。その結果，MSCの投与は，難治性うつ病モデルの社会性機能障害を特異的に改善すること，一方で，漢方薬の加味帰脾湯の投与は，モデル動物の共感性機能を特異的に改善，増強させるとの知見を得た。現在，関連脳機能変化の解析を進め，統合・比較解析を急いでいる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の分担研究者は，本学医学部神経再生医療学部部門において，脊髄損傷後の麻痺症状に対する骨髄間葉系幹細胞による治療法についての研究を進めてきたが，既にその効果は臨床試験で確認され，実臨床への応用が始まった段階となっている。加えて，脳梗塞後の麻痺症状に対しての臨床試験が進行中であり，認知症に対しても同細胞を用いた臨床試験が予定されている状況にある。このような状況を踏まえると，投与する細胞の由来を骨髄間葉系幹細胞とした本研究の遂行は，その臨床応用の実現を格段に近づけるものであり，現在有効な治療法に乏しい難治性うつ病の患者への朗報となるとともに，社会的にも大きな貢献が期待できるものと確信している。

研究成果の概要（英文）：For the purpose of establishing a new treatment method for refractory depression, we produced a refractory depression model rat via double stress exposure in which alcohol exposure is given during embryonic period and corticosterone is administered during adolescence. Using this model, we have conducted analysis of efficacies of psychiatric drug and BM-MSC administration for behaviors of social function (social interaction behavior) and sympathetic function (rescue behavior of others). The result demonstrated that the administration of MSCs specifically improved the social dysfunction of the refractory depression model, while the administration of the Chinese herbal medicine Kamikihito specifically improved and enhanced the empathic function of this model. Currently, we are proceeding the integrative analysis for their related brain function changes.

研究分野：精神科学

キーワード：難治性うつ病 骨髄間葉系幹細胞 神経回路リモデリング FASD 血中exosome brain-derived exosome miRNA 幹細胞移植

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

従来より、うつ病治療の中で、病状の遷延化や慢性化を呈し、既存の薬物療法や電気痙攣療法にも抵抗性を示す、難治性うつ病患者の存在が重大な課題となっている。難治性うつ病が生じる背景には、多様で、複雑な要因が推察されるが、一因としては、種々のストレス曝露による胎児期の脳発達への影響に加え、児童～思春期における脳神経系の発達・成熟の障害の併存が存在する可能性が注目されており、例えば、胎児期のストレスとなる母体の飲酒による胎児のアルコール曝露では、FASD (Fetal Alcohol Spectrum Disorder) 児の情緒・行動障害の問題が指摘されている。実際に、FASD 児では、うつ病の併存率が高いことが既に報告されている。近年では、DSM-5 でも、今後の研究のための病態として「出生前のアルコール曝露」が挙げられ、胎児期アルコール曝露により、気分障害などの問題が起こりやすくなることを指摘している。また、児童～思春期における養育者からのネグレクト・暴力などによるストレスが、薬物治療に奏効し難いうつ病につながっているとの報告もある。加えて、既存の治療に対して抵抗性を示す患者、特に若年の患者では、社会性行動の障害や焦燥・衝動性の亢進が顕著であり、自殺企図・自傷行為を繰り返すことが多く、現在、有効な治療手段の無いこうした治療反応性の乏しい難治うつ病症例に対する、新たな根治的治療法の確立が強く望まれている。

2. 研究の目的

本研究の目的は、難治性うつ病モデル動物に対して BM-MSC + 向精神薬を投与し、新たな難治性うつ病治療法の可能性を模索することである。具体的には、モデル動物と同種のラット由来骨髄間葉系幹細胞 (BM-MSC) を使用し、モデル動物の社会性・共感性機能の行動変化、脳機能変化、および末梢血サンプルを用いた間接的脳神経機能変化の解析を実施する。

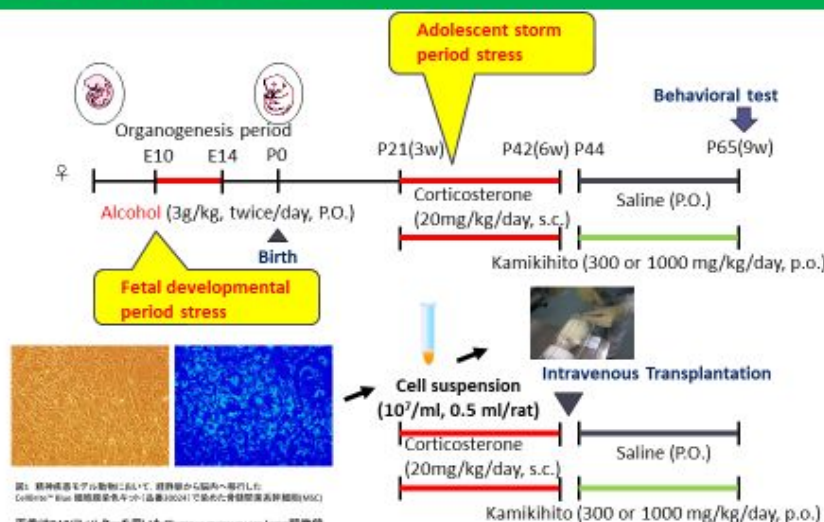
近年、精神疾患の治療経過における患者の脳神経機能変化の測定については、画像解析法の研究的な取り組みが進んでいるが、日常臨床で脳神経機能変化を簡便かつ頻回に測定できる方法は未だ確立されていない。このような問題に対して、最近、末梢血に含まれる脳細胞由来の小胞 (brain-derived exosome) を単離し、含有する分子 (各種蛋白・miRNA 等) 動態を解析する新たな手法が注目されており、神経精神疾患においても exosome 内の蛋白・miRNA 分子の解析が、診断や脳神経機能変化の測定に活用できる可能性が示されており、併せて、難治性うつ病に対する自家培養 BM-MSC 経静脈投与による臨床試験開始を目指す統合的研究を進めた。

3. 研究の方法

(1) 実験スケジュール

難治性うつ病モデル動物に対して BM-MSC + 漢方薬 加味帰脾湯を投与し、新たな難治性うつ病治療手段としての評価・検討を行った。解析に用いる病態モデル動物として、胎生期にアルコールを曝露させた上で、若年期に corticosterone (CORT) を慢性投与した“難治性うつ病モデルラット”を作成した。その上で、病態モデル群の一部には、加味帰脾湯を投与し、行動学的変化について、各群間で比較検討を実施した (図1)。

図 1. 実験スケジュール

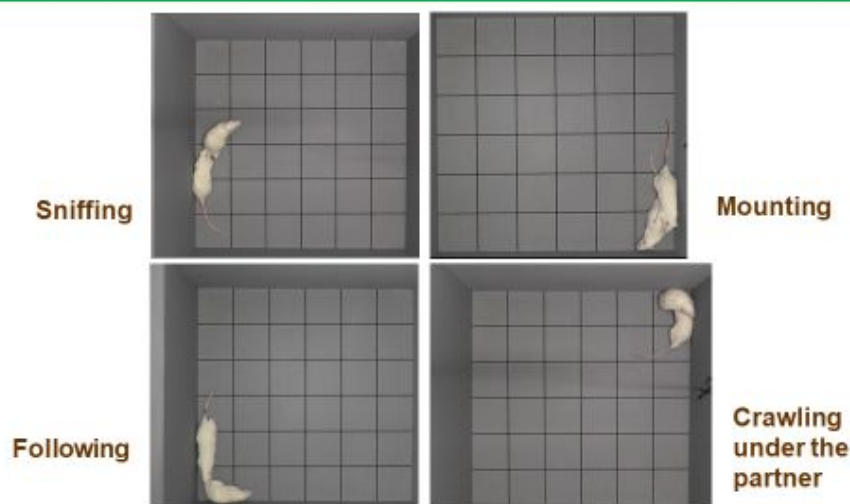


★ 胎生期/若年期二重ストレス負荷による難治性うつ病モデルの作成と実験スケジュール

(2) 行動学的評価：社会相互作用試験

社会性機能の評価に用いた社会相互作用試験は、始めて出会った2匹のラットが示す社会的行動様式の変容に着目した試験である。テストラットと、週齢・体重がほぼ同程度で異なったホームケージで飼育したパートナーラットを同時にオープンフィールド装置に入れ、テストラットのパートナーラットへの臭い嗅ぎ行動 (sniffing)、追尾行動 (following)、上乗り行動 (mounting)、潜り込み行動 (crawling under the partner) などの能動的社会的行動 (active contact) 時間をビデオ解析装置で測定し、社会性機能の指標とした (図2)。

図 2. 行動学的評価：社会相互作用試験

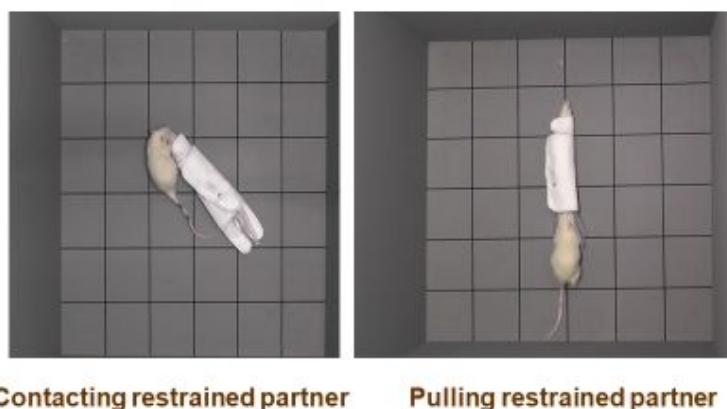


★ オープンフィールドにおいて、初対面のラットに対する、sniffing, mounting, following, crawling under the partnerなどの、社会性行動時間をビデオ解析装置を用いて測定した。

(3) 行動学的評価：共感性機能評価試験

ラットの共感性機能の解析は、Bartal 等が報告したテストラットの能動的行動を指標とする、共感的随意行動 (救援行動：rescue behavior) 評価試験を用いて実施した (Bartal BA et al., 2011)。すなわち、初めて出会ったパートナーラットを布からなる拘束具に閉じ込め、テストラットの拘束個体への接触時間と、拘束個体を移動させる (引っ張り) 時間を共感性の指標として用いた。拘束されたパートナーラットは90 cm 四方のオープンフィールドの中心に置き、テストラットの10分間のセッション中の援助行動をビデオ解析装置で測定して評価した (図3)。

図 3. 行動学的評価：共感性機能評価試験



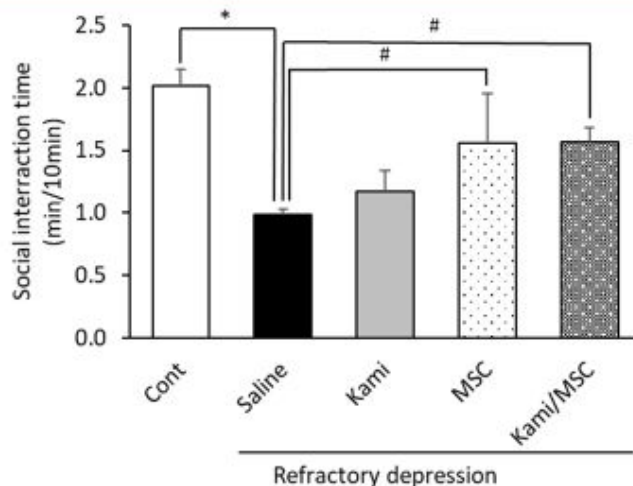
★ オープンフィールドにおいて、初対面の拘束状態のラットに対する、Contacting the restrained partner, Pulling the restrained partnerなどの、共感的随意行動 (救助行動) 時間をビデオ解析装置を用いて測定した。

4. 研究成果

(1) 行動学的解析：社会相互作用試験

難治性うつ病モデルでは、ソーシャルインタラクションで示される社会性行動が約 50%に減少した。これに対し、MSC および MSC と加味帰脾湯を併用投与した群では、モデル動物で減少した社会性行動が有意に改善された。一方、加味帰脾湯の単独投与群では、こうした効果は認められなかった（図 4）。

図 4. 行動学的解析(社会相互作用試験)

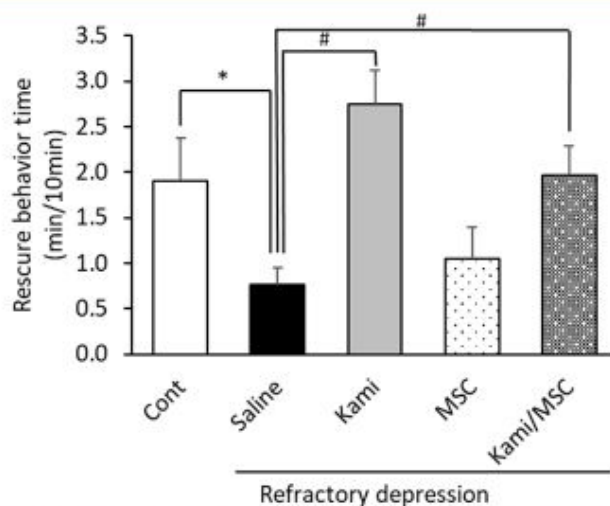


★ MSC, およびMSC+加味帰脾湯投与群は、難治性うつ病群の社会性行動障害を改善する効果を示した。

(2) 行動学的解析：共感性評価試験

難治性うつ病モデルでは、拘束個体への接触時間、および救助行動で示される共感性行動が約 40%に減少した。これに対し、加味帰脾湯および加味帰脾湯と MSC を併用投与した群では、モデル動物で減少する共感性行動が有意に改善された。一方、MSC の単独投与群では、こうした効果は認められなかった（図 5）。

図 5. 行動学的解析(共感性機能評価試験)

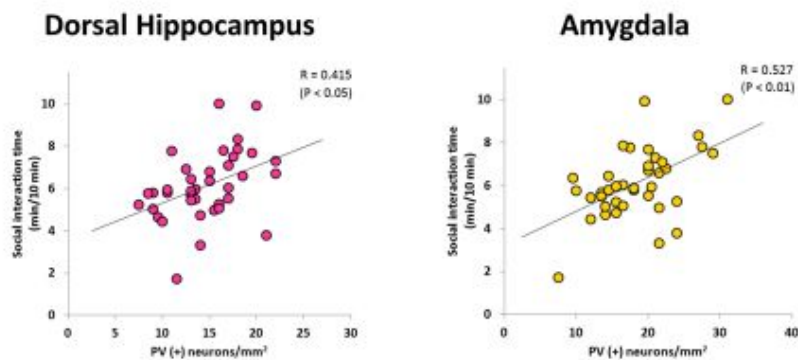


★ 加味帰脾湯, およびMSC+加味帰脾湯投与群は、難治性うつ病群の共感性機能障害を改善する効果を示した。

(考察・今後)

本研究では、胎生期・若年期での二重ストレスで誘発される、難治性うつ病モデル動物を用いて、治療困難な難治性うつ病の新たな治療手段としての薬物 + BM-MSC 投与の可能性を探ることを目指した。今回の社会性、および共感性の行動学的変化の解析を踏まえ、今後、社会性機能、共感性機能に深く関わる脳神経系の変化について、海馬(背側・腹側)、帯状皮質(前部・後部)、扁桃体、視床下部、側坐核、の各領域で、神経新生・シナプス発達・栄養因子シグナル・Glutamate/GABA balance modulationの観点から解析を進める。加えて、脳5領域における転写制御因子 NRSF/REST (社会性機能との深い関連が報告されている) PV・Somatostatin 陽性細胞数と関連蛋白 otx2、後シナプス蛋白 PSD95 の発現変化を解析し、上記の観点に関わる分子変動として同定していく(図6)。

図 6. 準備実験 PV陽性細胞密度 vs 社会性行動



★ 準備実験において、PV陽性GABA系Interneuronの密度と、社会性行動活性が正の相関を示すとの知見を得た。

特に、最近、オキトシン神経系の賦活効果が種々に報告されている漢方薬の加味帰脾湯との併用効果について解析したことで、投与した MSC が脳のどんな機能に働いているのかについて特異性をつかんでいくための重要な知見が得られてものと考えている。さらに、血液を用いた解析として、神経細胞特異的マーカー (L1-CAM) を発現した末梢血小胞中の分子群 (NRSF/REST, otx2, BDNF, および miRNA 206) の定量解析を実施し、将来のヒト臨床試験時の脳機能変化解析指標の選定の基礎データなるよう、まとめてきたいと思っている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 8件 / うち国際共著 4件 / うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Sasaki M, Oka S, Kataoka-Sasaki Y, Kocsis JD, Honmou O.	4. 巻 135
2. 論文標題 Diseases as the Target of Cellular Therapy with Mesenchymal Stem Cells.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 World Neurosurg.	6. 最初と最後の頁 375-376
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.wneu.2019.12.137.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Nakazaki M, Oka S, Sasaki M, Kataoka-Sasaki Y, Onodera R, Komatsu K, Iihoshi S, Hiroura M, Kawaguchi A, Kocsis JD, Honmou O.	4. 巻 4
2. 論文標題 Prevention of neointimal hyperplasia induced by an endovascular stent via intravenous infusion of mesenchymal stem cells.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Neurosurg.	6. 最初と最後の頁 1-13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3171/2019.7.JNS19575.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Nakazaki M, Sasaki M, Kataoka-Sasaki Y, Oka S, Suzuki J, Sasaki Y, Nagahama H, Hashi K, Kocsis JD, Honmou O.	4. 巻 408
2. 論文標題 Intravenous infusion of mesenchymal stem cells improves impaired cognitive function in a cerebral small vessel disease model. Neuroscience.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Neuroscience.	6. 最初と最後の頁 361-377
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuroscience.2019.04.018.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 廣田 亮介, 佐々木 祐典, 押切 勉, 森田 智慶, 本望 修, 山下 敏彦.	4. 巻 2
2. 論文標題 運動器診療におけるプレジジョンメディシン: 脊髄損傷への自己骨髄間葉系幹細胞を用いた再生医療.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Precision Medicine	6. 最初と最後の頁 1032-1035
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 森田 智慶, 佐々木 祐典, 本望 修, 山下 敏彦.	4. 巻 56
2. 論文標題 脊髄損傷に対するリハビリテーション医療-実践と挑戦- : 脊髄損傷患者に対する自家骨髄間葉系幹細胞移植とリハビリテーション治療.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Japanese Journal of Rehabilitation Medicine	6. 最初と最後の頁 552-554
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nishioka Masaki, Bundo Miki, Ueda Junko, Katsuoka Fumiki, Sato Yukuto, Kuroki Yoko, Ishii Takao, Ukai Wataru, Murayama Shigeo, Hashimoto Eri, Nagasaki Masao, Yasuda Jun, Kasai Kiyoto, Kato Tadafumi, Iwamoto Kazuya	4. 巻 72
2. 論文標題 Identification of somatic mutations in postmortem human brains by whole genome sequencing and their implications for psychiatric disorders	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Psychiatry and Clinical Neurosciences	6. 最初と最後の頁 280 ~ 294
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/pcn.12632	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 鷗飼渉, 辻野華子, 杉村政樹, 木川昌康, 田山真矢, 石井貴男, 古瀬研吾, 廣瀬奨真, 橋本恵理, 澤田いずみ, 山本武志, 白鳥正典, 河西千秋, 相馬仁.	4. 巻 9
2. 論文標題 深い学びの要 ディープコミュニケーションとは何か: どことどこで会話をしているのか	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 医療人育成センター紀要	6. 最初と最後の頁 35-43
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Furuse Kengo, Ukai Wataru, Hashimoto Eri, Hashiguchi Hanako, Kigawa Yoshiyasu, Ishii Takao, Tayama Masaya, Deriha Kenta, Shiraiishi Masaki, Kawanishi Chiaki	4. 巻 247
2. 論文標題 Antidepressant activities of escitalopram and blonanserin on prenatal and adolescent combined stress-induced depression model: Possible role of neurotrophic mechanism change in serum and nucleus accumbens	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Affective Disorders	6. 最初と最後の頁 97 ~ 104
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jad.2019.01.007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nakazaki M, Oka S, Sasaki M, Kataoka-Sasaki Y, Nagahama H, Hashi K, Kocsis JD, Honmou O.	4. 巻 6
2. 論文標題 Prolonged lifespan in a spontaneously hypertensive rat (stroke prone) model following intravenous infusion of mesenchymal stem cells.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Heliyon.	6. 最初と最後の頁 e05833
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.heliyon.2020.e05833.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 廣田 亮介, 佐々木 祐典, 押切 勉, 栗原 康太, 本望 修, 山下 敏彦.	4. 巻 249
2. 論文標題 高齢者脊椎疾患リハビリテーションアプローチ: 高齢脊髄損傷患者のリハビリテーション医療 - 骨髄間葉系幹細胞移植治療との関連 - .	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Medical Rehabilitation.	6. 最初と最後の頁 49-53.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 橋本 恵理, 鶴飼 渉, 西村 恵美, 橋口 華子, 木川 昌康, 田山 真矢, 出利葉 健太, 古瀬 研吾, 石井 貴男, 河西 千秋.
2. 発表標題 胎生期免疫ストレス誘発統合失調症モデルの社会性行動とGABA作動性インターニューロン変化に関する研究.
3. 学会等名 第115回日本精神神経学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐々木 祐典, 本望 修
2. 発表標題 神経領域における創薬研究の新たな展開: 神経機能の回復をめざして: 脳梗塞と脊髄損傷等に対する骨髄間葉系幹細胞の静脈内投与による細胞移植療法.
3. 学会等名 第37回日本神経治療学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 荻野裕介, 古瀬研吾, 佐藤謙太郎, 保前英希.
2. 発表標題 ドバミン調節異常症候群の薬物療法: ミルタザピンが奏効した1例からの考察.
3. 学会等名 精神神経学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 渡邊理紗, 文東美紀, 上田順子, 村田唯, 石井貴男, 鶴飼渉, 橋本恵理, 笠井清登, 清水史郎, 加藤忠史, 岩本和也.
2. 発表標題 ヒト死後脳の神経細胞におけるLINE-1プロモーターのエピジェネティック修飾状態の検討.
3. 学会等名 生物学的精神医学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ukai W, Tsujino H, Kigawa Y, Tayama M, Deriha K, Furuse K, Nishimura E, Ishii T, Hashimoto E, Kawanishi C.
2. 発表標題 Effects of antipsychotics on prenatal immune stress-induced schizophrenia: studies on social behavior and GABAergic interneuron function changes.
3. 学会等名 The World Federation of Societies of Biological Psychiatry (WFSBP) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 出利葉 健太, 鶴飼 渉, Riva Marco, 西村 恵美, 橋本 恵理, 木川 昌康, 橋口 華子, 古瀬 研吾, 田山 真矢, 村山 友規, 石井 貴男, 河西 千秋.
2. 発表標題 統合失調症の社会性認知機能障害の脳基盤解析: Glutamate/GABAニューロンバランスメカニズムからの検討.
3. 学会等名 日本神経精神薬理学会年会・日本生物学的精神医学会年会・日本精神薬学会総会・学術集会合同年会.
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小笠原 卓音, 田中 俊明, 太刀川 公人, 橋本 浩平, 小林 皇, 木川 昌康, 河西 千秋, 舛森 直哉.
2. 発表標題 腎移植後に発生した精神症状に対し薬物療法が著効した2例.
3. 学会等名 第54回日本臨床腎移植学会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 Ukai W, Deriha K, Hashimoto E, Kawanishi C.	4. 発行年 2021年
2. 出版社 Elsevier	5. 総ページ数 1166
3. 書名 The Neuroscience of Depression: Features, Diagnosis, and Treatment. Chapter 36, Escitalopram and blonanserin as antidepressant agents linking in neurotrophic mechanisms.	

1. 著者名 出利葉 健太, 鶴飼 渉, 橋本 恵理, 河西 千秋.	4. 発行年 2021年
2. 出版社 京誠堂出版	5. 総ページ数 242
3. 書名 たこつぼ症候群：これまでの歩みと未来へのメッセージ. 土橋和文, 上嶋健治 編. VI 鑑別すべき病態について 精神疾患およびストレスとたこつぼ症候群.	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	佐々木 祐典 (SASAKI Masanori) (20538136)	札幌医科大学・医学部・准教授 (20101)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	橋本 恵理 (HASHIMOTO Eri) (30301401)	札幌医科大学・医学部・准教授 (20101)	
研究分担者	鶴飼 渉 (UKAI Wataru) (40381256)	札幌医科大学・医療人育成センター・准教授 (20101)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
イタリア	Department of Pharmacological &	Biomolecular Science,	University of Milan