

平成 21 年 3 月 19 日現在

研究種目：基盤研究 (C)  
 研究期間：2007～2008  
 課題番号：19590535  
 研究課題名 (和文)  
 視床下部一下垂体－副腎系過活動モデルによる治療抵抗性うつ病の病態解明と治療薬開発  
 研究課題名 (英文)  
 Development of animal models of treatment-resistant depression of rats  
 研究代表者  
 北村 佳久 (KITAMURA YOSHIHISA)  
 岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授  
 研究者番号：40423339

## 研究成果の概要：

本研究は「治療抵抗性うつ病」の動物モデルの確立を目的に掲げ、一連の研究を通じて「治療抵抗性うつ病」の病態メカニズムの解明および有効な治療薬の作用機序解明を進めた。その結果、下垂体ホルモンであるACTHを反復投与した視床下部一下垂体－副腎皮質系過活動モデルは既存抗うつ薬の効果を減弱させた。その病態にはセロトニン(5-HT)受容体のサブタイプの一つである5-HT<sub>2A</sub>受容体の機能が関与している可能性が示唆された。また、治療抵抗性うつ病の治療薬として5-HT<sub>1A</sub>受容体作用薬およびドパミン神経作用薬が有用であることを明らかにした。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,700,000	810,000	3,510,000
2008年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：境界医学・応用薬理学

キーワード：薬物治療学

## 1. 研究開始当初の背景

「精神疾患」の中でも「うつ病」の患者数は社会構造の複雑化により年々増加している。さらに、「うつ病」と特に密接な関係がある「自殺者」は2005年の統計では32,552人(警察庁)であり大きな社会問題として捉えられ、早急に効果的な対策の基礎となる研究に着手する必要がある。この「うつ病」に対する治

療に「薬物療法」は極めて重要な治療法である。この「薬物療法」は大きな成果を上げているが問題点も存在する。その一つとして、うつ病患者の約30%程度は既存の抗うつ薬に抵抗性を示す「治療抵抗性うつ病」の存在である。この「治療抵抗性うつ病」に対する病態メカニズムおよび治療法は未だ明らかにされておらず、基礎研究および臨床研究を駆

使して科学的根拠に基づく適正な薬物療法を確立することが緊急な課題となっている。そこで申請者は既存抗うつ薬の薬効が認められている実験系において、「治療抵抗性うつ病」の病態の一部を反映していると考えられている視床下部-下垂体-副腎系の過活動を人為的に負荷することによる動物モデルの開発に着手した。その結果、代表的三環系抗うつ薬であるイミプラミンおよびデシプラミンの抗うつ効果は認められないというこれまでにない動物モデルの作成に成功した。さらに、近年では抗うつ薬作用機序の一つとして「ニューロジェネシス」の概念が導入されてきた。申請者は予備検討の段階であるが視床下部-下垂体-副腎系過活動による神経細胞障害を見出しており行動薬理学的検討による抗うつ薬の抗うつ効果と併せて考察することにより、さらに治療抵抗性うつ病の病態解明につながると考えられる。

申請者は「治療抵抗性うつ病」の動物モデルの確立を目的に掲げ、一連の研究を通じて、治療抵抗性うつ病の病態メカニズムの解明および有効な治療薬の作用機序の解明を進めていく。本研究において動物モデルの作成は有効な薬剤の探索ならびに病態解明のデータを提示することが可能であり、特に産学共同によって次世代抗うつ薬創薬に有益な基礎的情報となると考える。

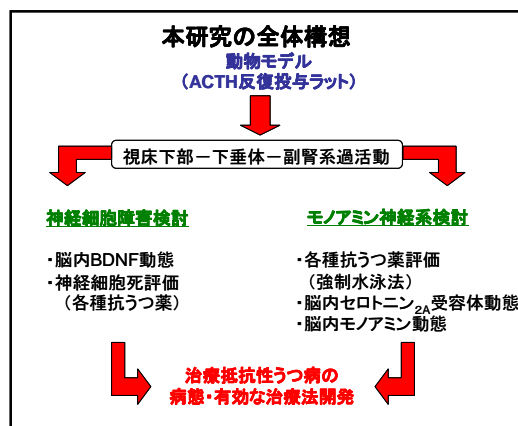
## 2. 研究の目的

申請期間内に、視床下部-下垂体-副腎系過活動モデルを用いて多角的なアプローチで以下の事項を明らかにする。

- (1) 強制水泳法を用いた各種モノアミン取り込み阻害薬の抗うつ効果発現の有無
- (2) 脳内セロトニン<sub>2A</sub>受容体動態および各種モノアミン取り込み阻害薬の影響
- (3) 脳内セロトニン遊離機能への影響

## (4) 神経細胞への影響

であり、これらをもとにして「治療抵抗性うつ病」の動物モデルの更なる確立および次世代抗うつ薬の開発を行う。



## 3. 研究の方法

- (1) ACTH 反復投与ラットを用いた既存抗うつ薬の抗うつ効果に対する影響

ACTH 反復投与ラットにおける既存抗うつ薬の抗うつ効果に対する影響を検討するために強制水泳法を用いて評価を行う。

- (2) ACTH 反復投与ラットの脳内5-HT<sub>2A</sub>受容体機能に対する影響

脳内5-HT<sub>2A</sub>受容体機能に関して、前頭葉皮質を用いて[<sup>3</sup>H]-ketanserinを用いた受容体結合実験および5-HT<sub>2A</sub>受容体 mRNA 含量について RT-PCR 法を用いて検討を行った。

- (3) ACTH 反復投与ラットの脳内セロトニン遊離に関する検討

脳内微量透析法により海馬における遊離されたセロトニンを灌流し、HPLC-ECD を用いて測定した。

- (4) ACTH 反復投与ラットを用いた海馬における神経細胞新生に対する影響

免疫組織化学的手法により海馬における新生細胞を抗 Ki-67 抗体を用いて染色し、定量化した。

## 4. 研究成果

本研究は「治療抵抗性うつ病」の動物モデル

の確立を目的に掲げ、一連の研究を通じて、「治療抵抗性うつ病」の病態メカニズムの解明および有効な治療薬の作用機序解明を進めてきた。本研究果は以下の通りである。

(1) ACTH を反復投与した視床下部-下垂体-副腎系過活動モデル動物を用いた各種抗うつ薬の抗うつ効果に与える影響  
(結果) 本モデルを用いて抗うつ薬であるイミプラミン・デシプラミン、フルボキサミン、ミルナシプランおよびタンドスピロンの抗うつ作用を検討した結果、すべての薬剤の抗うつ効果は消失した。一方、ドパミン神経作用薬であるブプロピオン、プラミペキソールおよびセレグリンの抗うつ作用は ACTH 反復投与モデルにおいても認められ、治療抵抗性うつ病に対するドパミン神経作用薬の有用性を明らかにした。

(2) ドパミン神経作用薬の作用機序に関する行動薬理学的検討  
(結果) その結果、プラミペキソールおよびブプロピオンの作用にはドパミン D1、D2 および D3 受容体を介して抗うつ効果を示すことを明らかにした。さらに、プラミペキソールの側坐核内微量注入により抗うつ効果を示したことより、治療抵抗性うつ病に対する改善効果には側坐核のドパミン神経系の賦活作用が重要であることを明らかにした。

(3) 5-HT<sub>2A</sub> 受容体機能亢進作用に対する抗うつ薬の影響  
(結果) ACTH 反復投与によって 5-HT<sub>2A</sub> 受容体は機能亢進作用を有し、その作用機序として 5-HT<sub>2A</sub> 受容体数および mRNA 発現量の増加が関与していることを明らかにした。この 5-HT<sub>2A</sub> 受容体機能の亢進に対してイミプラミンは抑制作用を示さないものの、ブプロピオンは抑制作用を示した。つまり、治療抵抗性うつ病の病態には 5-HT<sub>2A</sub> 受容体の機能亢進があり、治療抵抗性うつ病の改善には 5-HT<sub>2A</sub> 受容体の

機能抑制が必要であることを明らかにした。

(4) ACTH 反復投与における脳内 5-HT 遊離機能を明らかにする目的で脳内透析法を用いて「治療抵抗性うつ病」の病態メカニズムの解明を行う。

(結果) 5-HT<sub>1A</sub> 受容体作用薬である 8-OH-DPAT 投与による内側前頭前野における 5-HT 遊離量の減少作用は ACTH により減弱した。つまり、ACTH は pre-synaptic 5-HT<sub>1A</sub> 受容体機能の抑制作用を示すことが明らかとなった。

(5) 脳内神経栄養因子発現および海馬における神経細胞新生に与える影響

(結果) ACTH 反復投与により脳由来神経栄養因子 mRNA 量の低下および神経細胞の新生抑制作用が認められ、治療抵抗性うつ病の病態の一部には中枢神経の脆弱性が関与している可能性を明らかにした。

## 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 13 件)

1. K. Kitagawa, Y. Kitamura, T. Miyazaki, J. Miyaoka, H. Kawasaki, M. Asanuma, T. Sendo, Y. Gomita. Effects of pramipexole on the duration of immobility during the forced swim test in normal and ACTH-treated rats. Naunyn-Schmiedeberg Archives of Pharmacology (in press) 2009
2. H. Sagara, Y. Kitamura, T. Yae, K. Shibata, K. Suemaru, T. Sendo, H. Araki, Y. Gomita. Nicotinic acetylcholine alpha4beta2 receptor regulates the motivational effect of intracranial self stimulation behavior in the runway method. J. Pharmacol. Sci. 108: 455-61, 2008.
3. H. Sagara, Y. Kitamura, T. Sendo, H.

- Araki, Y. Gomita. Effect of diazepam to the runway method using priming stimulation of intracranial self stimulation behavior. *J. Pharmacol Sci.* 107: 355-360, 2008
4. H. Sagara, Y. Kitamura, T. Sendo, H. Araki, Y. Gomita. Motivational effect of nomifensine in the intracranial self-stimulation behavior using a runway method. *Bio. Pharm. Bull.* 31: 1036-1040, 2008
  5. Y. Kitamura, K. Kitagawa, S. Kimoto, H. Sagara, K. Shibata, H. Kawasaki, T. Sendo, Y. Gomita. Selegilin exerts antidepressant-like effects during the forced swim test in ACTH-treated rats. *J. Pharmacol Sci.* 106:639-644, 2008
  6. H. Sagara, Y. Kitamura, S. Esumi, T. Sendo, H. Araki, Y. Gomita. Motivational effects of nicotine as measured in the runway method using priming stimulation of intracranial self-stimulation behavior. *Acta Med. Okayama* 62: 227-233, 2008.
  7. H. Sagara, Y. Kitamura, T. Sendo, H. Araki, Y. Gomita. Motivational effects of methamphetamine as measured by the runway method using priming stimulation of intracranial self-stimulation behavior. *Biol. Pharm. Bull.* 31: 541-545, 2008.
  8. Y. Kitamura, K. Akiyama, K. Kitagawa, K. Shibata, H. Kawasaki, K. Suemaru, H. Araki, T. Sendo, Y. Gomita. Chronic coadministration of carbamazepine together with imipramine produces antidepressant-like effects in an ACTH-induced animal model of treatment-resistant depression: involvement of 5-HT<sub>2A</sub> receptors? *Pharmacol. Biochem. Behav* 89: 235-240, 2008
  9. Y. Kitamura, K. Shibata, K. Akiyama, S. Kimoto, Y. Fujitani, K. Kitagawa, H. Kanzaki, M. Ouchida, K. Shimizu, H. Kawasaki, T. Sendo, Y. Gomita. Increased DOI-induced wet-dog shakes in adrenocorticotrophic hormone-treated rats are not affected by the chronic imipramine treatment: possible involvement of enhanced 5-HT<sub>2A</sub> receptor expression in the frontal cortex. *J. Pharmacol Sci.* 106: 100-106, 2008
  10. Y. Kitamura, Y. Fujitani, K. Kitagawa, T. Miyazaki, H. Sagara, H. Kawasaki, K. Snibata, T. Sendo, Y. Gomita. Effects of imipramine and bupropion on the duration of immobility of ACTH-treated rats in the forced swim test: involvement of the expression of 5-HT<sub>2A</sub> receptor mRNA. *Biol. Pharm. Bull.* 31: 246-249, 2008
  11. 北村佳久、五味田 裕: モデル動物から推察する治療抵抗性うつ病の病態および今後の治療薬 *日本神経精神薬理学会雑誌* 28: 93-100, 2008
  12. 北村佳久、四宮一昭、五味田 裕: 視床下部-下垂体-副腎皮質系過活動モデルを用いた治療抵抗性うつ病モデルの作製および薬効評価 *日本薬理学雑誌* 132: 329-333, 2008
  13. B. Li, K. Suemaru, Y. Kitamura, R. Cui, Y. Gomita, H. Araki. Strategy to develop a new drug for treatment-resistant

depression -Role of  
electroconvulsive stimuli and BDNF-  
Yakugaku Zasshi, 127: 735-742, 2007

[学会発表] (計 8 件)

1. 江本清香、北村佳久、宮崎育子、北川航平、長町智子、土居真穂、石丸由衣、浅沼幹人、千堂年昭：ACTH 反復投与ラットにおける中枢ドパミントランスポーター発現に関する検討 第 82 回日本薬理学会年会 2009 年 3 月 16 日～18 日 横浜
2. 江角 悟、相良英憲、北村佳久、五味田 裕、千堂年昭：Priming stimulation 効果を用いた Runway 法における nomifensine の動機付け促進作用 第 82 回日本薬理学会年会 2009 年 3 月 16 日～18 日 横浜
3. Y. Kitamura, K. Kitagawa, T. Miyazaki, T. Nagamachi, M. Doi, I. Miyazaki, M. Asanuma, T. Sendo, H. Kawasaki, Y. Gomita. Development of animal model of treatment-resistant-depression in rats - Effects of antidepressants on the duration of immobility of ACTH-treated rats in the forced swim test - Neuroscience 2008 , 2008 年 11 月 15 日～19 日 ワシントンDC
4. 江角 悟、相良英憲、北村佳久、五味田 裕、千堂年昭：Run-way 法による意欲・動機付け評価へのドパミン D2 受容体の影響 第 38 回日本神経精神薬理学会 年会 2008 年 10 月 1 日～3 日 東京
5. 石田 茂、師橋一徳、生田祐一、北村佳久、荒木博陽、千堂年昭、五味田 裕：Morohine 単回投与ラットにおける naloxonw 誘発条件付け場所嫌悪行動に対する  $\alpha 7$  ニコチン性受容体拮抗薬の影響 第 81 回日本薬理学会年会 2008

年 3 月 17 日～19 日 横浜

6. 宮崎俊明、北村佳久、宮岡純也、北川航平、松永康臣、千堂年昭、五味田 裕：ACTH投与ラットに対するドパミンD2/D3 受容体アゴニストであるプラミペキソールの抗うつ様効果における脳部位の特定 第81回日本薬理学会年会2008年3月17日～19日 横浜
7. 長町智子、宮崎育子、江本清香、土居真穂、川崎博己、浅沼幹人、北村佳久、千堂年昭、五味田 裕：ラット海馬神経細胞及びアストロサイトの形態学的変化に対するACTH反復投与の影響 第81回日本薬理学会年会2008年3月18日 横浜
8. 長町智子、北村佳久、藤谷佳可、宮崎敏明、江本清香、土居真穂、宮崎育子、浅沼幹人、川崎博己、千堂年昭、五味田 裕：海馬神経細胞およびアストロサイトの形態学的変化から見た治療抵抗性うつ病の病態解明の試み 第18回霧島神経薬理フォーラム 2007年8月24日 愛媛

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

北村 佳久 (KITAMURA YOSHIHISA)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授

研究者番号：40423339

### (3) 連携研究者

五味田 裕 (GOMITA YUTAKA)

就実大学・薬学部・教授

研究者番号：00088709

川崎 博己 (KAWASAKI HIROMU)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授

研究者番号：60125151