

令和 6 年 6 月 18 日現在

機関番号：20101

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K07948

研究課題名（和文）難治性うつ病に対する新規治療戦略：報酬系・免疫系クロストークから探る疾患制御

研究課題名（英文）Novel therapeutic strategies for refractory depression: Exploring disease control through crosstalk between the reward system and immune system

研究代表者

橋本 恵理 (Hashimoto, Eri)

札幌医科大学・医学部・准教授

研究者番号：30301401

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：難治性うつ病に対する新規治療戦略の確立を目指し、独自に作製した難治性うつ病モデル動物を用いて検討を行った。報酬予測の観点から、適度な過剰予測ができないことが向社会的行動の動機付けや実行障害に結びつくこと捉えて社会相互作用と共感性機能に着目し、これまでの成果を踏まえて「薬物+細胞」処置による再生医療的アプローチの有効性を検討し、oxytocinergic neuron activatorとして作用する薬物と骨髄間葉系幹細胞の併用投与の有用性を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

標準的な抗うつ薬治療では回復しないうつ病への対応が臨床現場では大きな問題となっており、遷延化・難治化するうつ病に対する有用な治療法の確立は喫緊の課題である。難治性うつ病モデルを用いた本研究により、一般的な抗うつ薬以外の薬物と骨髄間葉系幹細胞併用処置による再生医療的アプローチの有効性と、新たな治療ターゲット分子候補が示唆された。難治性うつ病の病態理解および新規治療戦略確立の上での学術的意義および社会的意義は大きい。

研究成果の概要（英文）：Aiming to establish a novel treatment strategy for treatment-resistant depression, we conducted a study using refractory depression model rats that we had created ourselves. From the perspective of reward prediction, we focused on social interaction and empathic functions, as it is considered that the inability to moderately over-predict reward is linked to impaired motivation and execution of prosocial behavior. Based on our previous studies, we examined the effectiveness of a regenerative medicine approach using 'drug + cell' treatment, and found that the usefulness of the combined administration of drugs acting as oxytocinergic neuron activators and bone marrow-derived mesenchymal stem cell.

研究分野：精神医学

キーワード：神経科学 脳・神経 精神疾患 うつ病 難治性うつ病モデル 幹細胞

## 1. 研究開始当初の背景

うつ病の約3割は慢性化、遷延化しやすいといわれ、治療抵抗性が大きな問題となっており、難治性うつ病に対する有効な治療の確立は社会的に重要な喫緊の課題である。既存の抗うつ薬治療が奏功しない以上、従来とは異なる切り口での病態理解および治療戦略が必要となる。脳科学研究の進歩により、神経幹細胞からの神経新生の異常とそれに伴う神経可塑的变化がうつ病の病態に関わること、うつ病は脳内の広い領域における神経ネットワークの障害と捉えることができ、脳内で生じた神経回路変異が社会的な認知機能障害に影響すること等が示唆されている。

これまでの研究において我々は、アルコールが神経新生抑制作用を有し、うつ病の治癒阻害因子として働くことに着目して<sup>1,2)</sup>、胎児期アルコール曝露と若年期のコルチコステロン投与の二重のストレスを組み合わせることで、新たに難治性うつ病モデルを作製することに成功した<sup>3)</sup>。本モデル動物において、抗うつ薬単独では改善しないうつ病様行動異常に「薬物(抗うつ薬)+細胞(神経幹細胞移植)」処置による再生医療的アプローチが奏功することを見出した。

本モデルでは側坐核でのBDNFレベルが通常のうつ病モデル動物と比して高く、治療的効果があった場合のみ、その低下がみられた。うつ病では血中や海馬のBDNFが低値で、抗うつ薬治療後に増加するとの報告が主にされてきたが、抗うつ薬非反応群では血中BDNF変化は逆であり、動物モデルでも側坐核BDNF高値が報告されている。側坐核は報酬刺激の処理・報酬予測に関係する部位で、海馬と側坐核のBDNF不均衡は報酬系の機能異常と結びついて治療反応性/抵抗性に関与していると考えられた。また、ストレスや痛みが脳内報酬系のみならず全身的な免疫応答の変化をも誘発することが近年話題となっている。うつ病患者においても、治療反応群では増加していた炎症性サイトカインが正常化するが、非反応群では逆に上昇することが報告され、通常とは異なる免疫系の反応が難治性の病態に関与していることが示唆されている。よって、報酬系と免疫系の変化が難治性うつ病の病態にどのように関与するのか、その解明に取り組むことを考えるに至った。

難治性うつ病患者では、抑うつ気分が多少改善した後も、興味や意欲の回復に難渋することが多い。報酬予測の観点からみると、適度な過剰予測ができないということが、うつ病の脳機能の障害の一つであると言える。このことが、向社会的行動の動機付けや実行の困難さに結びついていると考えられ、これらの点に着目して研究を進めることとした。

## 2. 研究の目的

難治性うつ病モデル動物に対する「薬物+細胞」処置による再生医療的アプローチにおいて、骨髄間葉系幹細胞(bone marrow-derived mesenchymal stem cell:BM-MSC)を用いた場合の効果および抗うつ薬以外の向精神薬との組み合わせによる効果を確認する。

さらに、今後の治療応用に展開するための基盤となる検討として、行動改善に効果のあった薬物の作用メカニズムに関係する分子機構の解明に臨む。

(1) 難治性うつ病モデルを用いて、現在使用されている抗うつ薬との比較対象目的で他の向精神薬の投与とBM-MSC投与による効果に関して行動異常の変化についてうつ病モデルと比較検討する。特に、報酬系機能の障害と関連すると考えられる向社会的行動に着目した行動薬理学的解析を進める。

(2) 解析(1)で得られた知見を基に、関連する神経系の活性化の調整について、報酬系および免疫系の分子変動の観点から解析する。

## 3. 研究の方法

(1)モデル動物の作製と薬剤投与およびBM-MSC投与：既に報告している方法で難治性うつ病モデルラットを作製した。母体ラットとしてWistar系妊娠ラットを用い、胎生期E10からE13にかけて妊娠ラットに対して1日総量6g/kgアルコールを12時間毎2回に分け、ゾンデを用いて経口投与した。出生仔に対して生後3週から6週の3週間コルチコステロン20mg/kg/dayの皮下注射を施行した。対照群は、母体に生理食塩水を経口投与して1% tween皮下注射を行った。通常のうつ病モデルラット群は、母体に生理食塩水を経口投与してコルチコステロン20mg/kg皮下注射を行って作製した。生後7週から9週にかけて抗精神薬(プロナンセリン1mg/kg腹腔内投与等)や感情・社会的機能変化誘導の報告がある漢方薬(加味帰脾湯10g/L(1%)飲水投与等)の投与を行った。薬物投与群、成体ラット骨髄から採取したBM-MSCを経静脈的投与した群(MSC群)、MSCと薬物の投与を併用した群に対し、(2)の行動薬理学的解析を行った。

### (2) 行動薬理学的解析

生後9週時に、以下の行動薬理学的解析を行った。

社会相互作用試験：一辺90cm四方のオープンフィールド(グレーウォール)において、初対面のラットに対するsniffing, mounting, following, crawling under the partner等の能動的な社会的行動時間をビデオ解析装置を用いて計測、評価した。

共感性機能評価試験：同様のオープンフィールド（グレーウォール）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 等の共感随意行動（救援行動）時間をビデオ解析装置を用いて計測、評価した。

(3)脳スライスのおキシトシン染色：向精神薬投与後の行動薬理的検索の後に、ラットを麻酔下で採血後、断頭を行った。オキシトシンを含む視床下部ホルモンは、視床下部 - 下垂体系のホルモン分泌において重要な役割をもつ視床下部正中隆起部に集積する。抗 oxytocin 抗体を用いて染色によって、室傍核から正中隆起へのオキシトシンの軸索内輸送を観察した。

(4)血清におけるメラトニン測定：上記(3)における採血後、血液を 30 分間静置後に血清を分離した。メラトニン濃度の測定は、General MT/melatonin ELISA (AB clonal)を用いて行った。

#### 4. 研究成果

(1) アルコール曝露による神経回路網障害を有する胎児性アルコール・スペクトラム障害モデルラットを利用して、胎児期と若年期の二重のストレスを組み合わせた難治性うつ病モデルラットを作製し、向精神薬投与による効果に関して行動薬理的に、コルチコステロン投与によるうつ病モデル群と比較検討した。セルトラリン等の現在一般に用いられている抗うつ薬投与によって、うつ病モデル群では強制水泳試験における無動時間が有意に減少すること、一方で難治性うつ病モデル群では抗うつ薬の単独投与では同試験において無動時間に有意な変化はなく、抗うつ薬反応性が不良であることは、これまでの研究で既に確認済みである。

社会相互作用試験による検討において、難治性うつ病モデル群では、社会性行動が対照群に比して約 50%に減少した。これに対し、MSC 投与（移植単独処置）群、および、感情・社会的機能変化誘導の報告が近年続いている薬物の一つである加味帰脾湯と MSC 投与を併用した群では、社会的行動の有意な改善が認められた（図 1）。一方、薬物（加味帰脾湯）単独投与群では、このような社会的行動の改善効果はみられなかった。これまでの研究で、難治性うつ病モデルに対する MSC 単独投与、および抗うつ薬と MSC の併用投与によって、社会相互作用試験における行動異常を回復させることを示しており、薬物と細胞の併用による効果増強作用としては同様の結果であった。

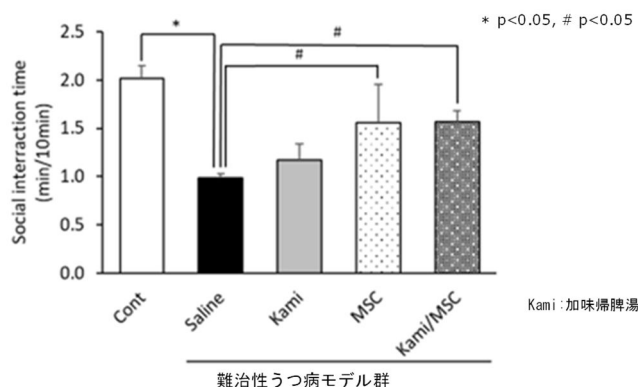


図 1 難治性うつ病モデルにおける社会性行動の解析

共感性機能評価試験による検討では、難治性うつ病モデルにおいて、拘束個体への接触時間および救援行動で示される共感性行動が、対照群に比して約 40%に減少した。これに対し、薬物（加味帰脾湯）単独投与群、および、薬物と MSC 投与を併用した群では、共感性行動が有意に改善されたが、MSC 単独投与（移植単独処置）群では同様の改善効果は認められなかった（図 2）。

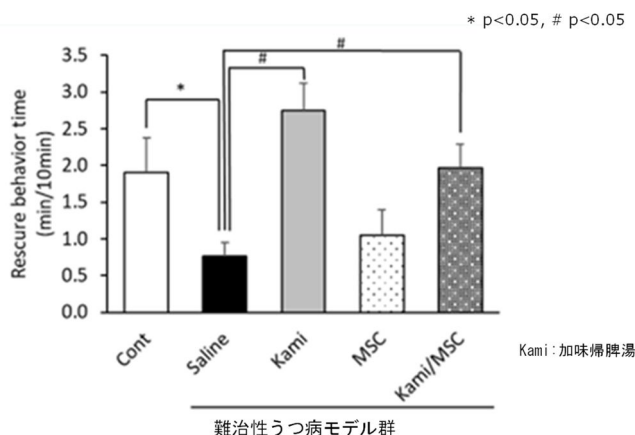


図 2 難治性うつ病モデルにおける共感性機能の解析

救援行動には、オキシトシン神経系の強い関与が指摘されており、本結果にはオキシトシン神経活性化の関与が考えられる。その点で、加味帰脾湯単独投与によって拘束個体に対する救援行動が増強されたことは大変興味深い知見である。

(2) 次に、前述の共感性機能（救援行動）増強効果発現に関して、オキシトシンの関与に着目して、難治性うつ病モデルにおける脳スライスを用いて、薬物および細胞投与の脳内オキシトシンニューロンに対する影響に関する検討を行った。

行動実験後の脳サンプルを用いた検討において、難治性うつ病モデル群では室傍核-正中隆起間に投射しているオキシトシンニューロン中のオキシトシン伝達の増大が観察された。また、同モデル動物に対する加味帰脾湯投与群ではオキシトシン発現がさらに増加していることが認められた（図3）。

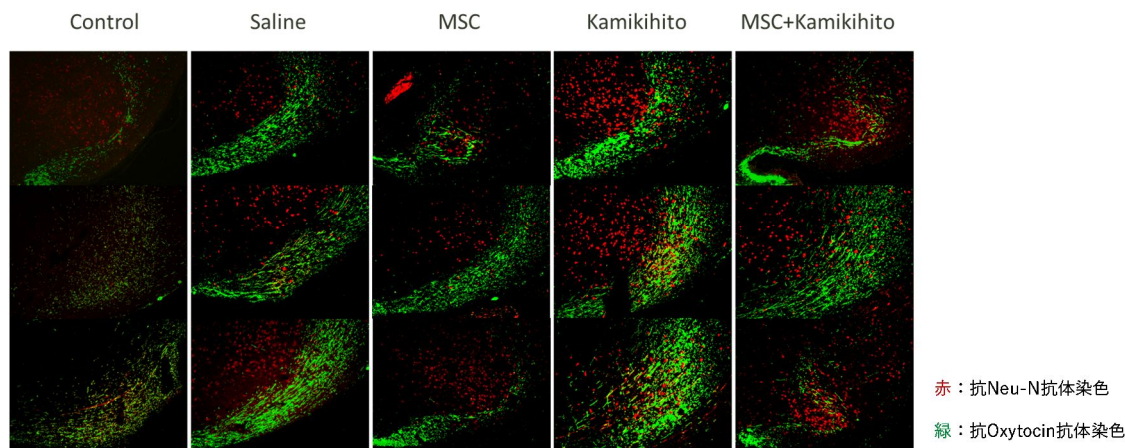


図3 薬物および細胞投与が脳内オキシトシンニューロンに及ぼす影響の解析

よって、加味帰脾湯がオキシトシン神経分泌機能を増強する、いわゆる oxytocinergic neuron activator として作用することが示唆された。

オキシトシンは海馬の歯状回門、顆粒層の神経細胞に最も強く結合していることが報告されているが、海馬歯状回門の神経細胞はその多くが GABA 作動性インターニューロンであることが示されており、室傍核から伸びる神経軸索末端から放出されるオキシトシンのターゲットとしての海馬と GABA interneuron 関与の重要性が考えられ、今後この点の解析によって新たな治療ターゲットの抽出につながることを期待される成果が得られた。

(3) 血液サンプルにおけるメラトニン濃度の解析においては、難治性うつ病モデル群では対照群に比して血清中メラトニン濃度は有意に高く、向精神薬投与によって減少を認めた。メラトニンは免疫緩衝作用を有していることが知られており、例えば炎症反応等で免疫活動が亢進している状態においては免疫を抑制する方向に働くことが知られている。よって、今回の難治性うつ病モデルにおける結果は、同モデルにおける炎症・免疫系の変動を示していることが考えられた。

#### <引用文献>

Shirasaka T, Hashimoto E, Ukai W, Yoshinaga T, Ishii T, Tateno M, Saito T. Stem cell therapy: social recognition recovery in a FASD model. *Transl Psychiatry* 2012;e188.

Ishii T, Hashimoto E, Ukai W, Tateno M, Yoshinaga T, Saito S, Sohma H, Saito T. Lithium-induced suppression of transcription repressor NRSF/REST: Effects on the dysfunction of neuronal differentiation by ethanol. *Eur J Pharmacol* 2008;593:36-43.

Furuse K, Ukai W, Hashimoto E, Hashiguchi H, Kigawa Y, Ishii T, Tayama M, Deriha K, Shiraishi M, Kawanishi C. 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. *J Affect Disord*. 2019; 247:97-104.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Deriha Kenta, Hashimoto Eri, Ukai Wataru, Marchisella Francesca, Nishimura Emi, Hashiguchi Hanako, Tayama Masaya, Ishii Takao, Riva Marco A., Kawanishi Chiaki	4. 巻 164
2. 論文標題 Reduced sociability in a prenatal immune activation model: Modulation by a chronic blonanserin treatment through the amygdala-hippocampal axis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Psychiatric Research	6. 最初と最後の頁 209 ~ 220
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jpsychires.2023.06.014	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 Watanabe Risa, Nakachi Yutaka, Matsubara Hikari, Ueda Junko, Ishii Takao, Ukai Wataru, Hashimoto Eri, Kasai Kiyoto, Simizu Siro, Kato Tadafumi, Bundo Miki, Iwamoto Kazuya	4. 巻 195
2. 論文標題 Identification of epigenetically active L1 promoters in the human brain and their relationship with psychiatric disorders	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Neuroscience Research	6. 最初と最後の頁 37 ~ 51
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neures.2023.05.001	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

〔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 鶴飼渉, 出利葉健太, 西村恵美, 橋本恵理, 廣瀬奨真, 橋口華子, 望月真里菜, 古瀬研吾, 磯山響子, 石井貴男, 館農勝, Marco A. Riva, 河西千秋
2. 発表標題 漢方薬と幹細胞を用いた社会性 / 共感性の行動・脳神経回路解析: 難治性精神疾患と周産期メンタルヘルス異常の病態と治療について
3. 学会等名 第59回日本東洋心身医学研究会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 出利葉健太, 鶴飼渉, 西村恵美, 橋本恵理, 山田美佐, 橋口華子, 廣瀬奨真, 古瀬研吾, 石井貴男, Marco A. Riva, 河西千秋
2. 発表標題 難治性精神疾患の社会性機能回復: 幹細胞と加味帰脾湯を用いた社会性 / 共感性の行動・脳神経回路変動解析
3. 学会等名 第44回日本生物学的精神医学会年会、第32回日本臨床精神神経薬理学会年会、第52回日本神経精神薬理学会年会、第6回日本精神薬学会総会・学術集会 4学会合同年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Watanabe R, Nakachi Y, Matsubara H, Ueda J, Ishii T, Ukai W, Hashimoto E, Kasai K, Simizu S, Kato T, Bundo M, Iwamoto K
2. 発表標題 Distinctive epigenetic regulation of L1 promoters in the human brain and its implication for psychiatric disorders.
3. 学会等名 HCSL Transposable Elements Meeting (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鶴飼渉, 出利葉健太, 西村恵美, 橋本恵理, 山田美佐, 橋口華子, 古瀬研吾, 小熊貴之, 田山真矢, 石井貴男, 河西千秋
2. 発表標題 社会性・共感性の神経回路変異に及ぼす加味帰脾湯 / 幹細胞併用療法の可能性に関する研究
3. 学会等名 第57回日本東洋心身医学研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 出利葉健太, 鶴飼渉, Marco A. Riva, 西村恵美, 橋本恵理, 橋口華子, 古瀬研吾, 田山真矢, 石井貴男, 河西千秋
2. 発表標題 統合失調症モデルにおける社会性認知機能障害とパルプアルブミン要請ニューロン変化についての検討
3. 学会等名 北海道精神神経学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 出利葉健太, 鶴飼渉, Marco A. Riva, 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 第 43 回日本生物学的精神医学会 第 51回日本精神薬学会 合同年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 出利葉健太, 鷓飼渉, Marco A. Riva, 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 第 50 回日本神経精神薬理学会年会 第 42 回日本生物学的精神医学会年会 第 4 回日本精神薬学会総会・学術集会 (NPBPPP 2020合同年会 ON LINE)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 橋本恵理	4. 発行年 2022年
2. 出版社 バリュメディカル	5. 総ページ数 183
3. 書名 北海道の健康をささえる札幌医科大学附属病院の最新医療	

1. 著者名 Ukai W, Deriha K, Hashimoto E, Kawanishi C	4. 発行年 2021年
2. 出版社 Academic Press	5. 総ページ数 1166
3. 書名 The Neuroscience of Depression	

〔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	山田 美佐  (Yamada Misa)  (10384182)	国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター・精神保健研究所 精神薬理研究部・科研費研究員   (82611)	

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	鶴飼 涉  (Ukai Wataru)  (40381256)	札幌医科大学・医療人育成センター・准教授    (20101)	
研究分担者	木川 昌康  (Kigawa Yoshiyasu)  (50581146)	札幌医科大学・医学部・助教    (20101)	

	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
研究協力者	岩本 和也  (Iwamoto Kazuya)	熊本大学・大学院生命科学研究部・教授	
研究協力者	出利葉 健太  (Deriha Kenta)	札幌医科大学・医学部	
研究協力者	西村 恵美  (Nishimura Emi)	札幌医科大学・医学部	

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
---------	---------