

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 3月 12日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21590593

研究課題名（和文） 神経細胞新生を基盤とした治療抵抗性うつ病の病態解明および治療薬開発

研究課題名（英文） Mechanisms of treatment-resistant depression on the basic study of hippocampal neurogenesis in ACTH-treated 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（和文）：

治療抵抗性うつ病の病態メカニズムの解明のために、下垂体ホルモンである ACTH を反復投与した治療抵抗性うつ病の動物モデルラットを用いて検討を行った。その結果、ドパミン神経作用薬が有効であることを明らかにした。本作用には側坐核におけるドパミン神経機能の亢進が考えられた。また、本モデルでは海馬における細胞新生は抑制されることを見出した。さらに、この抑制作用は imipramine と lithium の併用投与、電気けいれん療法により拮抗した。以上の結果より、治療抵抗性うつ病の病態には細胞新生の抑制が考えられ、その改善には細胞新生の改善が必要であることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

We examined its influence on the duration of immobility during the forced swim test in adrenocorticotrophic hormone (ACTH)-treated rats. The dopamine reuptake inhibitor bupropion and D2/D3 receptor agonist pramipexole significantly decreased the duration of immobility in normal and ACTH-treated rats. The infusions of bupropion and pramipexole into the nucleus accumbens, but not medial prefrontal cortex, decreased the immobility of normal and ACTH-treated rats during the forced swim test. These findings suggest the antidepressant-like effect of bupropion and pramipexole to be related to levels of dopamine in the rat nucleus accumbens.

We previously reported that the chronic administration of ACTH significantly decreased the number of BrdU-positive cells in the subgranular zone of the hippocampal dentate gyrus. This effect was reversed by the coadministration of imipramine and lithium, and electroconvulsive stimuli for 14 days in ACTH-treated rats. These results support the notion that imipramine and lithium, and electroconvulsive stimuli would improve the efficacy of treatment for resistant depression by triggering cell proliferation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2010年度	600,000	180,000	780,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
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：治療抵抗性うつ病・電気けいれん療法・神経細胞新生・ドパミン

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、既存抗うつ薬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。さらに申請者は治療抵抗性うつ病の病態メカニズムの解明ならびに次世代の抗うつ薬のリード化合物を探索すべく創薬研究を行った結果、既存の抗うつ薬とは異なるドパミン神経作用薬が有効であることを明らかにした。事実、治療抵抗性うつ病に対してドパミン神経作用薬が有効である臨床報告はあるものの、その詳細な改善機序に関しては不明である。

近年、抗うつ薬の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新生の

抑制を見出しており行動薬理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。そこで、本研究では行動薬理学的研究の結果と神経細胞新生に与える影響について併せて検討を行い、治療抵抗性うつ病改善における神経細胞新生の役割について明らかにする。

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ドパミン神経作用薬の抗うつ効果発現に関与するドパミン受容体ならびに作用部位の同定
- (2) 側坐核における脳内ドパミン遊離機能への影響
- (3) 神経細胞新生抑制に対する抗うつ薬および電気けいれん刺激の影響

であり、これらをもとにして「治療抵抗性うつ病」の病態解明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側坐核内ドパミン神経作用薬投与による抗うつ効果に対する影響

ACTH反復投与ラットにおけるドパミン神経作用薬の作用部位を明らかにするために側坐核内へ薬物を投与し、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反復投与ラットを用いた側坐核内ドパミン遊離に関する検討
脳内微量透析法により側坐核における遊離さ

れたドパミンを灌流し、HPLC-ECDを用いて測定した。

(3)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BrdU抗体を用いて染色し、定量化した。

(4)ACTHラットを用いた海馬における脳由来神経栄養因子 (BDNF) 動態

免疫組織化学的手法により海馬におけるBDNF含量をWestern blot法を用いて定量化した。

4. 研究成果

本研究は「治療抵抗性うつ病」の動物モデルを用いて、「治療抵抗性うつ病」の病態メカニズムの解明およびドパミン神経作用薬の有効性について研究を進めてきた。本研究果は以下の通りである。

(1)ACTH反復投与ラットを用いた側坐核内ドパミン神経作用薬投与による抗うつ効果に対する影響

ドパミン神経作動薬であるbupropion (ドパミン再取り込み阻害薬) およびpramipexole (ドパミンD2/D3作動薬) は内側前頭前野への微量投与により何ら影響しなかったが、側坐核への微量投与により不動時間短縮作用、すなわち抗うつ効果を認めた。この作用はACTH反復投与ラットでも同様に認められた。さらに、bupropionおよびpramipexoleの抗うつ効果はドパミンD2およびD3受容体拮抗薬で拮抗された。

(2)ACTH反復投与ラットを用いた側坐核内ドパミン遊離に関する検討

上記(1)で示したbupropionによる抗うつ効果の作用機序を神経生化学的に明らかにする目的で、脳内透析法による側坐核におけるドパミン遊離量変化、さらにドパミントランスポーターの発現変化を検討した。その結果、

bupropionの投与によりドパミン遊離量は増加した。その増加作用はACTH反復投与ラットでも同様に認められた。さらに、ACTH反復投与によりドパミントランスポーターに変化は認められなかった。

(3)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

ACTH反復投与により海馬における神経細胞新生は抑制されることを見出した。さらに、この抑制作用はimipramine投与により回復しないものの、lithiumとの併用投与により正常化した。また、治療抵抗性うつ病に有効な治療である電気けいれん療法は神経細胞新生を促進させた。以上の結果より、治療抵抗性うつ病の病態には神経細胞新生の抑制が考えられ、その改善には神経細胞新生の改善が必要であることを明らかにした。

(4)ACTHラットを用いた海馬における脳由来神経栄養因子 (BDNF) 動態の変化

ACTH反復投与ラットの海馬において、神経栄養因子のbrain derived neurotrophic factor (BDNF) の前駆型であるpro-BDNFの発現減少が認められた。BDNFは海馬の神経細胞新生において細胞の増殖および生存に必要な神経栄養因子であり、本結果はACTH反復投与による神経細胞の増殖および生存の抑制との関連が推察される。ACTH反復投与によるpro-BDNF発現の低下はimipramineおよびlithiumの併用投与で拮抗された。一方、電気けいれん刺激ではmature-BDNF発現が増加した。本結果はimipramineとlithiumの併用投与および電気けいれん刺激の治療抵抗性うつ病に対する抗うつ効果にはBDNF経路を介した神経細胞新生が関与している可能性が推察された。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 5件)

1. 林 宏美、土居真穂、尾上由華、鉦塚圭

- 子、三宅彩香、小山敏広、四宮一昭、宮崎育子、浅沼幹人、北村佳久、ACTH 反復投与ラットにおける海馬細胞新生の減少及びそのメカニズムに関する検討 YAKUGAKU ZASSHI 査読有 132:173-178, 2012.
2. Y. Kitamura, M. Doi, K. Kuwatsuka, Y. Onoue, I. Miyazaki, K. Shinomiya, T. Koyama, T. Sendo, H. Kawasaki, M. Asanuma, Y. Gomita, Chronic treatment with imipramine and lithium increases cell proliferation in the hippocampus in adrenocorticotrophic hormone-treated rats. Biol. Pharm. Bull. 査読有 34: 77-81, 2011.
 3. Y. Kitamura, T. Yagi, K. Kitagawa, K. Shinomiya, H. Kawasaki, M. Asanuma, Y. Gomita, Effects of bupropion on the forced swim test and release of dopamine in the nucleus accumbens in ACTH-treated rats. Naunyn-Schmiedeberg Archives of Pharmacology 査読有 382: 151-158, 2010.
 4. M. Doi, I. Miyazaki, T. Nagamachi, K. Shinomiya, H. Matsunaga, T. Sendo, H. Kawasaki, M. Asanuma, Y. Gomita, Y. Kitamura, Effects of imipramine and lithium on the suppression of cell proliferation in the dentate gyrus of the hippocampus in ACTH-treated rats. Acta. Med. Okayama 査読有 64: 219-223, 2010.
 5. 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 査読有 380: 59-66, 2009.
- [学会発表] (計 8 件)
1. K. Kuwatsuka, Y. Onoue, H. Hayashi, M. Doi, T. Koyama, I. Miyazaki, M. Asanuma, Y. Kitamura, Effects of imipramine and lithium on the suppression of cell proliferation in the dentate gyrus of the hippocampus in ACTH-treated rats. Neuroscience2011 2011 年 11 月 16 日 Washington DC (USA)
 2. T. Koyama, H. Hayashi, K. Kuwatsuka, Y. Onoue, M. Doi, I. Miyazaki, M. Asanuma, Y. Kitamura, Effects of electroconvulsive stimuli on neurogenesis in dentate gyrus of ACTH-treated rats. Neuroscience2011 2011 年 11 月 16 日 Washington DC (USA)
 3. 林 宏美、土井真穂、尾上由華、鋤塚圭子、三宅綾香、小山敏広、四宮一昭、宮崎育子、浅沼幹人、北村佳久、ACTH 反復投与ラットにおける海馬細胞新生の減少およびそのメカニズムに関する検討 日本薬学会 第 131 年会 2011 年 3 月 29 日 静岡
 4. 林 宏美、土井真穂、尾上由華、鋤塚圭子、小山敏広、四宮一昭、宮崎育子、浅沼幹人、北村佳久、ACTH 反復投与ラットにおける海馬細胞新生の減少に対する imipramine、lithium の作用に関する検討 第 84 回日本薬理学会年会 2011 年 3 月 24 日 横浜
 5. Y. Kitamura, M. Doi, H. Hayashi, I. Miyazaki, M. Asanuma, H. Kawasaki, Influence of the suppression of cell

proliferation and neurogenesis in the ability of antidepressants in an ACTH-induced animal model of treatment-resistant. WorldPharma2010 2010年7月20日 Copenhagen

6. 八木貴彦、宮崎俊明、北川航平、四宮一昭、浅沼幹人、千堂年昭、北村佳久、ACTH反復投与ラットを用いた bupropion の抗うつ効果におけるドパミン神経機能の関与 第83回日本薬理学会 年会 2010年3月17日 大阪
7. 土居真穂、長町智子、江川真季、宮崎育子、川崎博己、千堂年昭、浅沼幹人、北村佳久、ACTH反復投与ラットを用いた海馬歯状回における細胞増殖およびアストログリア活性に及ぼす影響 第83回日本薬理学会 年会 2010年3月17日 大阪
8. M. Doi, I. Miyazaki, K. Shinomiya, M. Asanuma, Y. Kitamura, Effects of imipramine and lithium on the suppression of cell proliferation and neurogenesis of dentate gyrus of hippocampus in ACTH-treated rats. The 1st Meeting of Asian College of Neuropsychopharmacology 2009年11月13日 Kyoto

[図書] (計 1件)

1. 北村佳久、浅沼幹人、宮崎育子、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創薬への応用 実験薬理学 実践行動薬理学 編集 日本薬理学会 金芳堂 138-146、2010

[産業財産権]
○出願状況 (計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]

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

(2) 研究分担者

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
浅沼 幹人 (ASANUMA MASATO)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授
研究者番号：00273970

(3) 研究協力者

小山 敏広 (KOYAMA TOSHIHIRO)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教
研究者番号：60595106