

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 20 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591667

研究課題名(和文) 精神疾患に関わるストレス脆弱性の脳内神経基盤 神経細胞新生と気分障害に着目して一

研究課題名(英文) Neural mechanisms underlying stress vulnerability -involvement of neurogenesis in mood disorder

研究代表者

中川 伸(nakagawa, shin)

北海道大学・大学病院・講師

研究者番号：60360905

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)：本研究ではストレス脆弱性の脳内分子基盤として、成体脳海馬における神経細胞新生に着目し、その調節メカニズムを多岐に渡り検討した。神経細胞新生を促進するものとして、新たにドパミンを見出し、D1受容体を介して働くことも明らかにした。また、抗うつ薬による促進効果として、グリア細胞を介してFGF-2が関与する経路、CaMKIVを介する経路を見出した。また、気分安定薬における神経前駆細胞の抗アポトーシス作用とその機序などを明らかにした。これらの結果は、従来の抗うつ薬や気分安定薬とは異なる作用機序を持つ気分障害治療薬への開発の一助になると思われる。

研究成果の概要(英文)：In this study we took particular note of neurogenesis in the adult hippocampus as molecular basis of stress vulnerability in the brain, and investigated the regulatory mechanisms of it. In vivo and vitro studies showed that dopamine increased neurogenesis via D1 receptors. Although antidepressants have been known to increase neurogenesis, we showed the new pathways including glia with FGF-2 and CaMKIV-CREB. In addition, anti-apoptotic effect and its mechanisms of mood stabilizers in the hippocampal progenitor cells were found. All these findings will contribute to make novel therapeutic drugs against mood disorder.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・精神神経科学

キーワード：神経細胞新生 うつ病 抗うつ薬 気分安定薬 ドパミン グリア細胞 CaMKIV 気分障害

1. 研究開始当初の背景

うつ病や双極性障害などの気分障害患者は近年増加の一途をたどり、その影響による経済的損失も大きく、社会問題化している。気分障害の薬物治療には、モノアミン仮説に準じた抗うつ薬と数少ない気分安定薬が主に使用されているが、現存のこれらの治療薬では、うつ病では約3割の寛解率である。このため、新規のメカニズムによる抗うつ薬の開発が望まれている。

近年、大人になっても脳の海馬における神経細胞は新生され続けることが、明らかになってきており、少数ではあるもののこれらの神経細胞が増加することが、うつ病の寛解に関係することが判ってきている。私達はこの新たな神経細胞を増やす作用の機序として、1) 現存する抗うつ薬そのもの、2) 気分安定薬である炭酸リチウム・3) バルプロ酸、神経伝達物質の4) セロトニン・5) ノルアドレナリン、6) 細胞内シグナル伝達系のcAMP-CREB カスケードなどを検討して、2) 3) 5) 6) が関与することを明らかにしてきた。

2. 研究の目的

これまでの知見を広げるために海馬における神経細胞新生のメカニズムを1) 神経細胞周囲にあるグリア細胞との関連、2) 気分安定薬の細胞内シグナル、3) 神経伝達物質のドパミン、4) 細胞内シグナル伝達系のCaMKIV(カルシウム-カルモジュリンキナーゼIV)の観点から検討することが本研究の目的になる。

3. 研究の方法

成体ラット脳全体から海馬における神経幹細胞(前駆細胞)への影響を計測するために、腹腔内にチミジンのアナログであるBrdU(プロモデオキシウリジン)を投与し、24時間後または3週間後に、それぞれ増殖する

細胞数、増殖後に生き残った成熟神経細胞数を、抗BrdU抗体を用いた免疫組織化学法にて計測した。また、成体ラットの海馬から神経前駆細胞を単離培養し、周囲の細胞環境に依存しない神経前駆細胞そのものへの影響を検討した。細胞数の計測として、増殖中(分裂中)の細胞はBrdUを用いたELISA法、生細胞数はAlamar Blue assay法を用いた。また、アポトーシスの検出はスタウロスポリンによるアポトーシス誘導を行い、TUNEL染色をし、陽性細胞数をカウントした。レチノイン酸により分化誘導されたADPに対して幼弱ニューロンのマーカーとしてTuj-1、星状膠細胞のマーカーとしてGFAPを用い、各々の抗体を用いた免疫組織化学法を行い、陽性細胞数を計測し、ニューロン/グリア細胞比の検討を行った。また、CaMKIVを検討する実験では、遺伝子を欠損させたCaMKIVノックアウトマウスを使用した。

4. 研究成果

(1) 三環系抗うつ薬であるアミトリプチリンはグリア細胞を介した抗うつ作用を示すことが示されていた。いくつかの神経成長因子がグリア細胞から放出されているのは明らかであったが、その中でもFGF-2という因子が神経前駆細胞を増殖させる事を明らかにした。

(2) 気分安定薬のバルプロ酸は、ストレスホルモンであるグルココルチコイドにより減少した神経前駆細胞増殖を元来の状態に戻すことを明らかにした。また、これにはGSK-3とその下流にある-カテンンというカスケードが関連することを明らかにした。また、その他の気分安定薬である炭酸リチウム、ラモトリギン、カルバマゼピンとともにアポトーシスに関連するBcl-2、p53の遺伝子発現を変化させ、抗アポトーシス効果を発現することを明らかにした。

(3) ドパミンアゴニストは臨床的に一部の

うつ病患者に有効である。高用量のドパミンは単離された神経前駆細胞数を増加させた。これらは薬理的検討により、D1 受容体を介することを明らかにした。また、D1 受容体アゴニストは、新生された神経細胞が成熟過程で死ぬことを抑制した。

(4) SSRI の神経細胞増殖作用に CaMKIV カスケードが関与することを明らかにした。また、この下流に CREB リン酸化、BDNF 発現量の増加が関係していた。

これらの知見は神経細胞新生と抗うつ作用のメカニズムの一部を明らかにしたものである。これら関与物質を検討することは、新たな抗うつ薬開発に貢献しうるものと思われる。

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9件)

Takamura N, Nakagawa S, Masuda T, Boku S, Kato A, Song N, An Y, Kitaichi Y, Inoue T, Koyama T, Kusumi I. The effect of dopamine on adult hippocampal neurogenesis. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 50, 116-124, 2014. 査読ありDOI: 10.1016/j.pnpbp.2013.12.011.

Boku S, Nakagawa S, Masuda T, Nishikawa H, Kato A, Takamura N, Omiya Y, Kitaichi Y, Inoue T, Kusuimi I. Valproate recovers the inhibitory effect of dexamethasone on the proliferation of the adult dentate gyrus-derived neural precursor cells via GSK-3 and -catenin pathway. *Eur J Pharmacol*. 15: 425-430, 2014. 査読ありDOI: 10.1016/j.ejphar.2013.10.060

Boku S, Hisaoka-Nakashima K, Nakagawa S, Kato A, Kajitani N, Inoue T, Kusumi I, Takebayashi M. Tricyclic antidepressant amitriptyline indirectly increases the proliferation of adult dentate gyrus-derived neural precursors: and involvement of astrocytes. *PLoS One* 50: 116-124, 2013. 査読ありDOI: 10.1371/journal.pone.0079371.

Boku S, Nakagawa S, Takamura N, Kato A, Takebayashi M, Hisaoka-Nakashima K, Omiya Y, Inoue T, Kusumi I: GDNF facilitates differentiation of the adult dentate gyrus-derived neural precursor cells into astrocytes via STAT3. *Biochem Biophys Res Commun*, 434: 779-784, 2013. 査読ありDOI: 10.1016/j.bbrc.2013.04.011.

Boku S, Nakagawa S, Toda H, Kato A, Takamura N, Omiya Y, Inoue T, Koyama T: ROCK2 regulates bFGF-induced proliferation of SH-SY5Y cells through GSK-3 and -catenin pathway. *Brain Res*. 1492: 7-17, 2013. 査読ありDOI: 10.1016/j.brainres.2012.11.034.

Song N, Nakagawa S, Izumi T, Toda H, Kato A, Boku S, Inoue T, Sakagami H, Li X B, Koyama T: Involvement of CaMKIV in neurogenic effect with chronic fluoxetine treatment. *Int J Neuropsychopharmacol*, 16: 803-812, 2013. 査読ありDOI: 10.1017/S1461145712000570.

Song N, Boku S, Nakagawa S, Kato A, Toda H, Takamura N, Omiya Y, Kitaichi Y, Inoue T, Koyama T: Mood stabilizers commonly restore

staurosporine-induced increase of p53 expression and following decrease of Bcl-2 expression in SH-SY5Y cells. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 38, 183-189, 2012. 査読あり DOI: 10.1016/j.pnpbp.2012.03.006.

Masuda T, Nakagawa S, Boku S, Nishikawa H, Takamura N, Kato A, Inoue T, Koyama T: Noradrenaline increases neural precursor cells derived from adult rat dentate gyrus through beta2 receptor. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 36, 44-51, 2012. 査読あり DOI: 10.1016/j.pnpbp.2011.08.019

Boku S, Nakagawa S, Masuda T, Nishikawa H, Kato A, Toda H, Song N, Kitaichi Y, Inoue T, Koyama T: Effects of mood stabilizers on adult dentate gyrus-derived neural precursor cells. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 35, 111-117, 2011. 査読あり DOI: 10.1016/j.pnpbp.2010.09.019

[学会発表](計4件)

Nakagawa S, Song. N, Takamura. N, Kato. A, An. Y, Inoue. T, Li. X, Kusumi. I, Involvement of CaMKIV in antidepressant action, 43th Annual Meeting Society for Neuroscience, 2013.11.9-2013.11.13, Convention Center (San Diego, USA)

Nakagawa S, Takamura. N, Boku. S, Song. N, Kato. A, Inoue. T, Kusumi. I, Effect of dopamine on adult hippocampal neurogenesis, 第11回世界生物学的精神医学会国際会議、2013年6月23日-2013年6月27日、国立京都国際会館(京都市)

Nakagawa S, Takamura. N, Boku. S,

Song. N, Kato. A, Inoue. T, Effect of dopamine on adult hippocampal neurogenesis, 42th Annual Meeting Society for Neuroscience, 2012.10.13-2012.10.17, New Orleans Convention Center (New Orleans, USA)

Nakagawa. S, Song. N, Izumi. T, Boku. S, Toda. H, Kato. A, Li. X, Inoue. T, Sakagami. H, Koyama. T, Involvement of CaM kinase IV in the action of antidepressant treatment, 41th Annual Meeting Society for Neuroscience, 2011. 11.12.-2011.11.16 Washington DC Convention Center (Washington DC, USA)

[図書](計3件)

中川 伸、井上 猛、橋本謙二、功刀 浩、うつ病-治療・研究の最前線 医学のあゆみ 別冊、512 (465-470)、医歯薬出版株式会社 2014.

中川 伸、小山 司、専門医のための精神科リュミエール 27, 345 (68-76), 中山書店 2011.

Nakagawa S and Duman RS: Depression. Neurogenesis in the adult brain II. Edited by Seki T, Sawamoto K, Parent JM and Alvarez-Buylla A, Springer, Tokyo, 210 (99-108), 2011.

6. 研究組織

(1)研究代表者

中川 伸 (NAKAGAWA SHIN)
北海道大学・北海道大学病院・講師
研究者番号：60360905

(2)研究分担者

井上 猛 (INOUE TAKSHI)

北海道大学・大学院医学研究科・准教授
研究者番号：70250438

朴 秀賢 (BOKU SHUKEN)
北海道大学・北海道大学病院・助教
研究者番号：60455665

(3)連携研究者

なし