

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 30 日現在

機関番号：20101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591678

研究課題名(和文) 顆粒球コロニー刺激因子による精神疾患への細胞治療の開発

研究課題名(英文) Stem cell therapy for psychiatric disorders using granulocyte-colony stimulating factor

研究代表者

吉永 敏弘 (YOSHINAGA, TOSHIHIRO)

札幌医科大学・医学部・研究員

研究者番号：70404704

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：末梢血中の造血幹細胞の増加を介して、脳内の神経新生を増やす新たな治療手段の開発を目指した。初めに、末梢への幹細胞投与と、末梢血中の栄養因子を増加させる効果が明らかとなってきた抗うつ薬を組み合わせることが、難治性の精神疾患モデルに対して、有効な手段となり得る可能性を示した。また、末梢からの細胞の脳内移行について解析を進め、投与細胞が、視床下部近傍のオキシトシン/バソプレッシン作用部位の領域に強く集積すること、そして、モデルラットの養育行動変化の解析から、投与細胞が信頼・愛着に基づく社会認知や社会行動を改善している可能性を明らかとし、精神疾患に対する末梢造血幹細胞移植研究の道筋を示した。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to develop a possible therapeutic approach for psychiatric disorders by neurogenesis upregulation through increase of peripheral hematopoietic stem cells. First, we have demonstrated that the combined peripheral treatment of stem cells and antidepressant, which has been indicated to increase trophic factors in the serum could have potential to recover the abnormal behavior of treatment-resistant refractory depression model. We have also shown that peripherally treated neural stem cells concentrated much in the hypothalamus areas where oxytocin/vasopressinergic neurons exist, and recovered social/cognitive impairment of psychiatric disease model including parental behavior.

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：精神薬理学 顆粒球コロニー刺激因子 細胞治療 再生医療 神経幹細胞 神経新生 造血幹細胞移植

科学研究費助成事業 研究成果報告書

1. 研究開始当初の背景

近年、うつ病や統合失調症といった精神疾患においても、神経変性疾患の病態と類似した神経回路網の障害による器質的変化が疾患の成立に関わるとの報告が増えている。また、精神疾患治療薬が、変化した脳神経回路を再生・修復している可能性の報告が出てきている。しかしながら、未だ臨床においては、薬物療法や、さらには電気痙攣療法にも反応性の乏しい難治症例に対する有効な対処法はほとんど存在しないという現実があり、こうした問題に対して我々は、精神疾患の脳で生じた神経回路異常をより直接的に修復する目的で、細胞を用いた再生医療的方法の可能性について検討を続けてきた。例えば、胎児性アルコールスペクトラム障害（妊娠中の飲酒による出生児の障害：FASD）モデルラットに対して、神経幹細胞を経静脈的に移植し、多動性と衝動性といった、FASD に特徴的な症状が改善する可能性を示してきた。

2. 研究の目的

上記の問題を踏まえ、現在、脳梗塞に対する自家骨髄移植の臨床試験において、末梢静脈から移植された造血幹細胞が脳内で神経系の細胞に分化することがわかってきたことから、本研究では、末梢血中の造血幹細胞を増加させることで脳内の神経新生を増やすことができるのであれば、G-CSF の投与によっても造血幹細胞移植と同様の効果が期待できるのではないかと考え研究を進めることとした。加えて、こうした因子の増強作用を含め、末梢からの細胞移植療法の効果を高める薬物の併用の有用性について検討を進めた。

3. 研究の方法

これまで我々が行ってきた細胞療法研究の1つは、胎生期にストレスを曝露させた精神疾患モデル動物を用いた検討である。これは、胎生期の一定期間にストレス（アルコール、poly I:C 等）を加えた病態モデルに、(蛍光および RI) 標識した神経幹細胞を経静脈的に投与し、細胞投与による行動障害の改善効果について評価を行うもので、モデル動物における記憶・認知機能、社会コミュニケーションの機能異常と、神経幹細胞を投与した群におけるその改善を明らかとしてきた。我々はまた、精神疾患の脳で生じた神経回路変異を、障害領域に特異的に移行する性質をもった細胞（幹細胞）と、既存の神経細胞の生存機能を上げ、かつ内在性の神経新生を促進させる処置（薬剤・運動・リハビリテーション）の両者を組み合わせることによって、より効果的に修復・再生する方法を確立しようとする試みを続け、これまでに、幹細胞移植に抗精神病の olanzapine を併用処置することで、投与細胞がより高率で脳に移行・生存

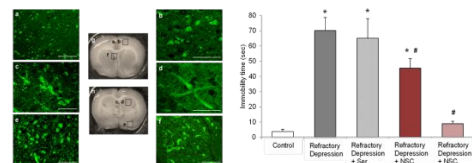
する可能性を明らかとし、報告した。

4. 研究成果

(1) 難治性うつ病に対する有用性の検討

今回、妊娠期の一定期間に母親にアルコールを摂取させ、さらに、若年期の一定期間にコルチコステロンを投与する方法で、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動物の作製を試みた。本モデル動物は、強制水泳試験において、その無動時間がコルチコステロンのみを曝露させた群（うつ病モデル）よりも有意に延長し、抗うつ薬の投与はこの異常に全く効果を示さなかった。しかしながら、抗うつ薬の投与に神経幹細胞の投与を組み合わせた併用処置群では、難治性うつ病モデル動物の無動時間がコントロールに近いレベルまで短縮されることが示され、これらの行動学的変化に、脳内の GABAergic 神経系の障害とその改善が関与する可能性、特に、前部帯状回、および扁桃体における postsynaptic density protein 95 (PSD95) 蛋白の変動と、前部帯状回、海馬、および扁桃体の PV interneuron の数の変化の重要性を示唆するデータを得、薬物/細胞療法の併用療法が、薬剤抵抗性の難治症例に対して有効な手段となる可能性が示されたと考えた（図1）。

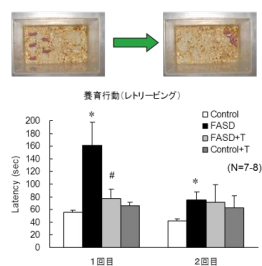
図1 難治性うつ病モデルを用いた検討



(2) オキシトシン/バソプレッシンシステム増強による社会認知・社会行動改善の可能性
近年の生物学的研究から、ヒトや動物が相手を識別・認知して行動を変える社会性機能に、オキシトシンやバソプレッシン神経ペプチド分泌細胞系が深く関わっていることが明らかとなっている。そこで、次に、社会性行動の1つとして、愛情・信頼に関わる養育行動について行動学的解析を実施した。ここでは、親ラット（雌）のレトリビング(仔集め行動)について評価した。1回目の試行において、コントロール群のラットは、図のように離して置かれた仔を一匹ずつ口に加えて巣に連れて行き、約 60 秒後に最後の1匹を巣に入れた。これに対して、FASD モデル群のラットでは、最後の仔を巣に入れるまでに約 150 秒かかり、FASD モデルに細胞を投与した群のラットではこうしたレトリビングの遅延は抑制され、約 80 秒後には最後の1匹

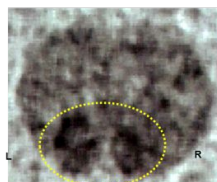
を巢に入れ、レトリーピングの障害の改善が認められた。また、2回目の試行でも、FASDモデル群のラットではレトリーピング時間の有意な延長が認められたが、1回目と比べるとかかった時間は約半分だった(図2)。本検討では、1回目の試行で、レトリーピング時間が有意に延長し、その異常が、細胞移植を行うことによって大幅に改善することが分かったが、FASD群においても、2回目になるとレトリーピングの完了時間が早くなり、養育行動のうち、仔の認識(これは子供だ)に特に問題があり、行動決定(養育したい)や、行動計画(効率よい養育行動)の異常は小さいことも推察された。

図2 FASDモデルを用いた養育行動異常の解析



(3) 投与細胞の視床下部近傍領域への集積
さらに、標識神経細胞の脳内分布の解析で、投与細胞が、視床下部・扁桃体等のオキシトシン/バソプレッシン作用部位の領域に強く集積することが分かったことから(図3)、投与細胞がオキシトシン/バソプレッシンシステムを増強することによって、信頼・愛着・絆に基づく社会認知や社会行動を改善している可能性が考えられ、今後、治療薬がそうした脳内機構の修復・再生に関わっている可能性の問題も含め、詳細を追求していきたいと考えている。

図3 投与細胞の視床下部近傍領域への集積



(考察)

研究を通して私たちは、薬物や細胞による行動異常改善の脳内メカニズムの可能性としてPV陽性細胞を含むGABA系interneuronの機能、産生異常の問題に突き当たった。PV

陽性細胞は、executive functionなど、より高次の認知機能を司る細胞として知られており、それが、 δ -band powerの変化等の解析から脳波学的に評価できるとの研究があり、将来的には、GABAergic interneuron機能変化を介した治療効果と脳波解析をセットにした研究展開のが可能性が念頭に浮かび、本研究に続く新たな精神疾患研究として、発展させていきたいと考えている。

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)

- 1) Kigawa Y, Hashimoto E, Ukai W, Ishii T, Furuse K, Tsujino H, Shirasaka T, Saito T. Stem cell therapy: a new approach to the treatment of refractory depression. J Neural Transm 2014; [Epub ahead of print] (有)
- 2) 鷓飼渉. アルコール性脳障害とうつ病に対するトランスレーショナルリサーチの展望 - 病態解明と診断の観点から -. 日本生物学的精神医学会誌 2014; 25: 24-26 (無)
- 3) Hashimoto T, Yamada M, Iwai T, Saitoh A, Hashimoto E, Ukai W, Saito T, Yamada M. Plasticity-related gene 1 is important for survival of neurons derived from rat neural stem cells. J Neurosci Res 2013; 91: 1402-1407 doi: 10.1002/jnr.23269 (有)
- 4) Yoshinaga T, Hashimoto E, Ukai W, Ishii T, Shirasaka T, Kigawa Y, Tateno M, Kaneta H, Watanabe K, Igarashi T, Kobayashi S, Sohma H, Kato T, Saito T. Effects of atelocollagen on neural stem cell function and its migrating capacity into brain in psychiatric disease model. J Neural Transm 2013; 120: 1491-1498 doi: 10.1007/s00702-013-1010-4 (有)
- 5) 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; 2: e188 doi: 10.1038/tp.2012.111 (有)
- 6) Ahmed EU, Ahmed S, Ukai W, Matsumoto I, Kemp A, McGregor IS, Kashem MA. Antipsychotic induced alteration of growth and proteome of rat neural stem cells. Neurochem Res 2012; 37: 1649-1659 doi: 10.1007/s11064-012-0768-3 (有)
- 7) 鷓飼渉, 小野貴文, 橋本恵理, 金田博雄,

白坂知彦, 五十嵐健史, 木川昌康, 渡邊公彦, 吉永敏弘, 石井貴男, 館農勝, 小林清樹, 齋藤利和. 統合失調症の脳神経回路修復 薬物・細胞コンバインド療法の可能性の検討. 日本生物学的精神医学会誌 2012 ; 23: 109-114 (無)

- 8) Iwai T, Saitoh A, Yamada M, Takahashi K, Hashimoto E, Ukai W, Saito T, Yamada M. Rhotekin modulates differentiation of cultured neural stem cells to neurons. J Neurosci Res 2012; 90: 1359-1366 doi: 10.1002/jnr.23029 (有)
- 9) 齋藤利和, 鷓飼渉, 白坂知彦, 橋本恵理, 吉永敏弘, 金田博雄, 五十嵐健史, 渡邊公彦, 館農勝, 石井貴男. 経静脈的神経幹細胞移植による FASD モデルラットの行動異常改善と脳神経回路シナプス形成の修復. アルコールと医学生物学 2012; 31: 40 (無)

〔学会発表〕(計 13 件)

- 1) 鷓飼渉, 橋本恵理, 木川昌康, 石井貴男, 古瀬健吾, 辻野華子, 齋藤利和. (シンポジウム) 胎生期アルコール曝露と成長後のストレスを組み合わせた難治性うつ病モデルにおける神経幹細胞移植療法の有効性に関する研究. 第 33 回アルコール医学生物学研究会学術集会: 2014 年 1 月 24-25 日: 高知
- 2) Saito T, Hashimoto E, Ukai W, Takao Ishii, Kigawa Y, Furuse K, Tsujino H, Kobayashi S, Yoshinaga T. Effects of ethanol and antidepressant on the platelet BDNF release function in the peripheral blood: Implication in the pathogenesis of psychiatric disease. 52nd Annual Meeting of The American College of Neuropsychopharmacology (ACNP): 2013 December 8-12: Florida.
- 3) 鷓飼渉, 橋本恵理, 石井貴男, 木川昌康, 古瀬健吾, 辻野華子, 吉永敏弘, 齋藤利和. (シンポジウム) 薬物療法と神経新生・神経回路修復. 第 26 回日本総合病院精神医学会総会: 2013 年 11 月 29-30 日: 京都
- 4) Ishii T, Ukai W, Kigawa Y, Kengo F, Kakutani Y, Hashimoto E, Saito T. Alcohol reduces the effect of antidepressants on platelet BDNF release. 43rd Annual Meeting of The Society for Neuroscience (SfN): 2013 Nov 9-13, San Diego, California
- 5) 鷓飼渉, 橋本恵理, 石井貴男, 木川昌康, 古瀬健吾, 辻野華子, 白坂知彦, 吉永敏弘, 小林清樹, 齋藤利和. 精神疾患に対する再生医療的アプローチの可能性 (シンポジウム) 依存研究を基盤にした精神

疾患の病因解明の試み. 第 23 回日本臨床精神神経薬理学会: 2013 年 10 月 24 日-26 日: 沖縄

- 6) Ukai W, Hashimoto E, Ishii T, Kigawa Y, Yoshinaga T, Watanabe K, Shirasaka T, Tateno M, Kobayashi S, Saito T. Stem cell research on Alcoholism. [Symposium] Biomedical Approach on Alcoholism. Regional Meeting of Collegium Internationale Neuro-Psychopharmacologicum (CINP): 2013 Oct 2-4: Kuala Lumpur.
- 7) Hashimoto E, Ukai W, Ishii T, Kigawa Y, Yoshinaga T, Watanabe K, Shirasaka T, Tateno M, Kobayashi S, Saito T. Basic aspects of alcohol use disorder comorbid with depressive disorder. [Symposium]: Alcohol abuse comorbidity. 14th Congress of ESBR: 2013 September 8-11: Warsaw
- 8) Ukai W, Hashimoto E, Shirasaka T, Ishii T, Yoshinaga T, Kaneta H, Kigawa Y, Tateno M, Kobayashi S, Saito T. [Symposium] Understanding of mechanisms underlying brain abnormality in FASD and its translational approach. 14th Congress of ESBR: 2013 September 8-11: Warsaw
- 9) Saito T, Hashimoto E, Ukai W, Takao Ishii, Kigawa M, Furuse K, Tsujino H, Kobayashi S, Yoshinaga T. Alteration of platelet BDNF release function in the peripheral blood: Implications of alcohol and antidepressant. The 3rd Congress of Asian College of Neuropsychopharmacology (AsCNP): 2013 September 11-14: Beijing, China.
- 10) Hashimoto E, Ukai W, Ishii T, Watanabe K, Shirasaka T, Kaneta H, Kigawa Y, Yoshinaga T, Tateno M, Saito T. Usage of peripheral-derived cytokine as a marker and treatment approach for neural plasticity change in alcohol-induced brain damage and depression. [Symposium]: Translational perspective on the imaging, epigenetics and peripheral-derived markers for alcohol induced brain damage and depression. WFSBP Congress of Biological Psychiatry: 2013 June 23-27: Kyoto
- 11) 鷓飼渉, 橋本恵理, 白坂知彦, 石井貴男, 吉永敏弘, 金田博雄, 木川昌康, 館農勝, 齋藤利和. アルコール脳障害の病態理解とその治療的アプローチ. (シンポジウム) 依存症発症メカニズムの脳科学. 第

36回日本神経科学大会 第56回日本神経化学会大会 第23回日本神経回路学会大会 合同大会 / Neuro2013: 2013年6月20-23日: 京都

- 12) Ukai W, Kaneta H, Hashimoto E, Igarashi T, Kigawa Y, Shirasaka T, Watanabe K, Yoshinaga T, Tateno M, Ishii T, Saito T. The effect of antipsychotics on GABAergic interneurogenesis in adult brain. 28th Collegium Internationale Neuro-Psychopharmacologicum (CINP) Congress: 2012 June 3-7: Stockholm, Sweden
- 13) Ukai W, Shirasaka T, Hashimoto E, Kaneta H, Igarashi T, Watanabe K, Yoshinaga T, Tateno M, Ishii T, Saito T. [Symposium] Cell-based therapy for alcohol-induced brain damage. The 2nd Congress of Asia-Pacific Society for Alcohol and Addiction Research (APSAAR): 2012 February 6-8: Bangkok

〔図書〕(計2件)

- 1) 鷓飼 渉, 石井 貴男, 橋本 恵理. 幹細胞療法と精神疾患. 糸川昌成監. メンタル医療. 東京: シーエムシー出版; 2013. pp193-200.
- 2) 鷓飼 渉. 気分障害と幹細胞. 躁うつ病の薬理・生化学的研究懇話会編. 気分障害の薬理・生化学. 大阪: 医薬ジャーナル社; 2012. Pp145-158.

〔産業財産権〕

出願状況 (計0件)

取得状況 (計0件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉永 敏弘 (YOSHINAGA Toshihiro)

札幌医科大学・医学部・研究員

研究者番号: 70404704

(2) 研究分担者

橋本 恵理 (HASHIMOTO Eri)

札幌医科大学・医学部・准教授

研究者番号: 30301401

鷓飼 渉 (UKAI Wataru)

札幌医科大学・医学部・講師

研究者番号: 40381256

館農 勝 (TATENO Masaru)

札幌医科大学・医学部・講師

研究者番号: 60464492

安宅 弘司 (ATAKA Koji)

札幌医科大学・医学部・助教

研究者番号: 30563358

(3) 連携研究者

()

研究者番号: