

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 4 月 1 日現在

機関番号：82609
研究種目：挑戦的萌芽研究
研究期間：2011～2012
課題番号：23659571
研究課題名（和文） 脂肪酸代謝異常を出発点とする気分障害の病態解明と治療法の開発
研究課題名（英文） Abnormal Fatty Acid Composition as a Starting Point of Research for Affective Disorders
研究代表者 楯林 義孝（TATEBAYASHI YOSHITAKA） 公益財団法人東京都医学総合研究所・精神行動医学研究分野・副参事研究員 研究者番号：80342814

研究成果の概要（和文）：気分障害が、どの神経回路のどのような細胞種で、どのような分子機序により生じているのか？という本質的疑問はいまだ未解明である。研究代表者は、気分障害の中核症例の死後脳を、最新鋭の方法論を用いてより厳密に解析することで、前頭極（BA10）に気分障害特異的な皮質オリゴ系譜細胞数の減少があること、さらにミエリン化に関連する脂肪酸異常があることを見出し、気分障害における特定の神経回路の特定の細胞種の異常を初めて示した。そこで本研究では、われわれが独自に開発した成体ラット海馬由来、培養オリゴグデンドロサイト前駆細胞（OPC）系を用い、気分障害細胞モデル（スクリーニング）系の確立と、気分障害の新しい治療法開発（特に脂肪酸代謝を中心に）を行なった。われわれはある成長因子が、濃度依存的に、培養 OPC に気分障害 BA10 で認められる脂肪酸分画異常を再現する可能性を見出した。今後、その作用機序を含め詳細に研究して行く予定である。

研究成果の概要（英文）：Neuropsychiatric disorders such as major depressive disorder (MDD) are highly prevalent and contribute substantially to disease burden worldwide. However, exploring the etiologies of MDD, especially those related to the neural circuits, cell types, and brain areas, involves substantial challenges. We have tackled these challenges by developing novel methodologies to analyze unfixed frozen postmortem brains from patients with MDD and from normal controls. We found in the frontopolar cortex (FPC; Brodmann Area 10 (BA10)) that MDD is associated both with a significant reduction in the densities of oligodendroglial cells, and with abnormal fatty acid (FA) composition all of which was aggravated in a myelin level-dependent manner. These results raise the distinct and novel possibilities that BA10 is involved in a key neural circuit responsible for and that oligodendroglial cells are the particular cell types affected in MDD. In the present study, using cultured adult rat hippocampal oligodendrocyte progenitor cells (OPCs), we have challenged to establish a novel cell model of MDD especially regarding FA metabolism. We have found that a growth factor dose-dependently may be able to reproduce the FA metabolic abnormalities found in the MDD brains.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：医学

科研費の分科・細目：精神医学

キーワード：気分障害、大うつ病、双極性障害、オリゴグデンドロサイト、オリゴグデンドロサイト前駆細胞、脂肪酸

脂質は、脳の乾燥重量の50~70%を占めるにも関わらず、脳内の代謝機構は大部分が不明のままである。また、その代謝は、遺伝子・タンパク質代謝との相関が低く、逆に環境因子の影響を大きく受ける。大うつ病などの精神疾患は、遺伝的背景に加え、環境因子がその発症に大きく関与しているが、脂質代謝との関連研究はほとんど進んでいない。

われわれは米国スタンレー財団から未固定凍結死後脳の提供を受け、脂質の主要成分である脂肪酸の新しい定量解析法を確立した (Tatebayashi et al., 2012 *Transl Psychiatry*, 2; e204)。動物実験を用いて、死後変化と全脂肪酸分画の関連を逐一調べ、全脂肪酸分画に影響を与える因子が、唯一、サンプル中のミエリン量であることを突き止めた。実際、大部分の脂肪酸がサンプル中のミエリン量に依存して共相関するという現象が認められた。そのため、主成分分析を用いてサンプル中のミエリン量を、最も公正に現すと考えられるファクターを抽出し、ミエリンファクター (MyelinFactor; MF) と名付け、MF と各脂肪酸の2変量解析を用いて、各脂肪酸濃度の病態間の比較を行なった。

驚くべきことに、この方法を用いることで、ヒトで最も発達したと考えられる前頭極 (前頭前野の最前部、Brodmann Area (BA) 10) において、大うつ病、双極性障害などの気分障害特異的な脂肪酸代謝異常を発見した。 ω 3 の DHA には一切異常を認めなかったが、特定の脂肪酸 (オレイン酸、 ω 3DPA、 ω 6 リノール酸など) が、ミエリン量の増加に比例して、気分障害 BA10 だけに蓄積、または減少していた。その変化は、極めてわずかなものであったが、統合失調症には変化を認めなかった。また薬剤の影響を受けないことが動物実験やヒトサンプルの詳細な調査からわかった。これらの結果は、ミエリンを形成するオリゴデンドロサイトに何らかの異常がある可能性を示唆しており、われわれが以前報告した、オリゴデンドロサイト系譜細胞 (olig2 陽性細胞) の特異的異常減少とも矛盾しない。

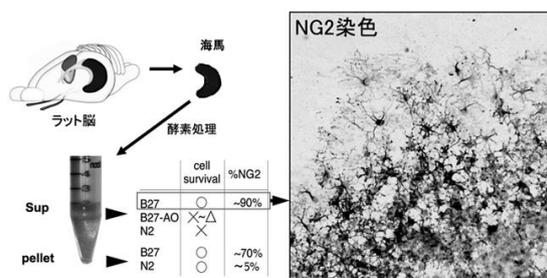
2. 研究の目的

本研究では、成体ラット海馬より分離培養したオリゴデンドロサイト前駆細胞 (aOPCs) を用いて、機能・分化・細胞死などを詳しく検討し、気分障害死後脳で認められた異常を *in vitro* で再現することを第一目標とする。さらにそれらの培養細胞系は、新規薬剤のスクリーニング系に利用できる可能性があるため、今後は根本的治療薬開発へと展開し、臨床還元することを目指した。

3. 研究の方法

ステップ密度勾配法を用い、成体ラット海馬より、以前はミエリン等の debris の集まりと考えられていた比重の軽い分画 (Sup) に、aOPCs が大量に存在することを見出した (図)。

そして、aOPCs をグルタミン酸を含まない無血清培地を用いて FGF2 刺激下で高純度で継代培養する方法を確立した。この aOPCs

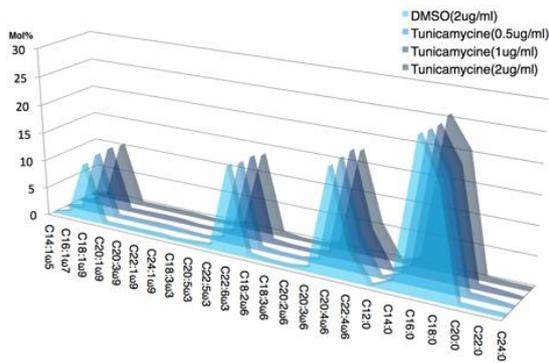


分画は、海馬神経幹細胞や血管表皮細胞 (ペリサイト) などが含まれる (より比重が重い) 分画 (Pellet) とは明らかに異なっており、さらにマイクログリは含まれず aOPCs をその細胞特性を保持したまま長期間 *in vitro* で、高純度 (NG2 陽性率 90% 以上、Olig2 陽性率 95% 以上など) で無血清培養が可能となった。さらに網羅的遺伝子発現解析を行なうとマウス脳で aOPC 特異的に発現している遺伝子がラット培養 aOPC でもその特異性が保持されていた。また *in vitro* で十分な細胞量が得られることから、成体脳におけるミエリン形成の *in vitro* での検証、また脂肪酸異常の解析も可能となった。

4. 研究成果

培養液に必須不飽和脂肪酸を加える事で脳内 (*in vivo*) とほぼ同様の脂肪酸分画を *in vitro* で再現出来た。その培養 aOPCs を用いて、さまざまな細胞障害系の脂肪酸分画に対する影響を検討した。小胞体ストレスを中心にさまざまな細胞障害モデル、タンパク質発現変動を伴うさまざまな培養条件 (小胞体に負荷がかかる) や、脂肪酸代謝に影響を及ぼすさまざまな薬剤の投与を行ない、脂肪酸への影響を *in vitro* で検討した。例えば小胞体ストレスを惹起させるチュニカマイシンを投与し一定期間後、脂肪酸分画を測定したが、残念ながら有意な変化を認めなかった (下図)。

現在、いくつかの候補物質が判明して来ており (ある種の成長因子が気分障害ヒト脳内に見つかった異常と似たような変化を *in vitro* で生じる) と、さらに詳細な検討を行う。



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 15 件)

1. Nihonmatsu-Kikuchi N, (他 2 人) Tatebayashi Y (2013) Depression and Alzheimer's Disease: Novel postmortem brain studies reveal a possible common mechanism. *J Alzheimer's Dis.* 査読あり in press.
2. 楯林義孝 (2013) うつ病とアルツハイマー病の脳内共通基盤-うつ病研究から提案する新しいアルツハイマー病研究-. *Dementia Japan (日本認知症学会誌)* 査読あり 27:151-162.
3. Kobayashi N, (他 5 人) Tatebayashi Y, (以下省略) (2013) Increase in the IgG avidity index due to herpes simplex virus type 1 reactivation and its relationship with cognitive function in amnesic mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Biochem Biophys Res Commun.* 査読あり 430:907-11.
4. Tatebayashi Y et al (2012) Abnormal fatty acid composition in the frontopolar cortex of patients with affective disorders. *Transl Psychiatry* 査読あり 2:e204.
5. Hayashi N, (他 8 人) Tatebayashi Y (以下省略) (2012) Post-hospitalization course and predictive signs of suicidal behavior of suicidal patients admitted to a psychiatric hospital: A 2-year follow-up study. *BMC Psychiatry* 査読あり 12:186.
6. 林義剛、楯林義孝 (2012) うつ病の死後脳研究とオリゴデンドロサイト分化と機能. *日本神経精神薬理学雑誌* 査読あり 32:4, 211-218.
7. 丹生谷正史、楯林義孝 (2012) 抗うつ薬と神経新生. *精神科* 査読無し 20:6,

649-653.

8. 新井誠、(他 3 人) 楯林義孝 他 (2012) カルボニルストレス性統合失調症の病態に関する研究. *日本生物学的精神医学学会誌* 査読無し 23:2, 115-120.
 9. 新井誠、(他 3 人) 楯林義孝 他 (2012) 特集:酸化ストレス・炎症と精神疾患 精神疾患とカルボニルストレス. *分子精神医学* 査読無し 12(1):21-26.
 10. Hayashi Y, (他 3 人) Tatebayashi Y (2012) Neuropathological similarities and differences between schizophrenia and bipolar disorder: a flow cytometric postmortem brain study. *PLoS ONE* 査読あり 7, e33019.
 11. Hayashi Y, (他 2 人) Tatebayashi Y (2011) A novel, rapid, cell-counting method for unfixed frozen brains comprehensively quantifies at least four neural cell populations. *Mol Psychiatry* 査読あり (image invited) 16, 1155.
 12. Hayashi Y, (他 3 人) Tatebayashi Y (2011) A novel, rapid, quantitative cell-counting method reveals oligodendroglial reduction in the frontopolar cortex in major depressive disorder. *Mol Psychiatry* 査読あり 16, 1156-58.
 13. 楯林義孝 他 (2011) 遺伝子改変モデル R406W モデル. *日本臨床 認知症学 上* 査読無し 69 増刊号 (8):271-275.
 14. 楯林義孝, 林義剛 (2011) 気分障害の死後脳研究. *精神医学* 査読有り 53(4):393-401.
 15. Nihonmatsu-Kikuchi N, (他 8 人) Tatebayashi Y (2011) Reduced rate of neural differentiation in the dentate gyrus of adult dysbindin null (sandy) mouse. *PLoS ONE* 査読あり 6, e15886.
- [学会発表] (計 10 件)
1. 楯林義孝 (2012) 生物学的研究から見た治療抵抗性うつ病の今後の治療戦略. 第 25 回日本総合病院精神医学会 (東京) シンポジウム (11/30)
 2. 楯林義孝 (2012) うつ病と認知症の共通脳内基盤. 第 31 回日本認知症学会学術集会 (つくば) ランチョンセミナー (10/28)
 3. 楯林義孝 (2012) 死後脳研究によるうつ病の病態解明と創薬研究. 第 31 回日本認知症学会学術集会 (つくば) 特別企画 (10/26)
 4. 林義剛, (他 4 人) 楯林義孝 (2012) フローサイトメーターを用いた新規脳細胞解析法の確立と大うつ病患者死後脳の解析. 第 54 回日本神経化学会大

- 会（加賀）（9/27）
5. **楯林義孝**（2012）うつ病と認知症の共通脳内基盤. 第9回日本うつ病学会総会（東京）シンポジウム（7/28）
 6. **楯林義孝**（2012）死後脳研究による気分障害病態解明と創薬研究-現状と課題-. 第9回日本うつ病学会総会（東京）ワークショップ（7/27）
 7. **楯林義孝**（2012）気分障害研究の現状と課題 第5回南信州溪流セミナー（飯田）シンポジウム（4/21）
 8. **楯林義孝** 他（2011）うつ病の死後脳研究とオリゴデンドロサイト分化と機能. 第21回日本臨床精神神経薬理学会・第41回日本神経精神薬理学会合同年会（東京）シンポジウム（10/28）
 9. 林義剛, (他4人) **楯林義孝**（2011）フローサイトメーターを用いた新規脳細胞解析法により明らかになった前頭極灰白質における統合失調と気分障害の神経病理学的類似点と相違点. 第6回日本統合失調症学会（札幌）（7/18）
 10. **楯林義孝**（2011）生物学的研究から見た初期統合失調症. 第4回南信州溪流セミナー（飯田）シンポジウム（4/16）

〔産業財産権〕

○取得状況（計1件）

名称：GABA 又はグリシン伝達系を標的にした新規薬剤スクリーニング法

発明者：楯林義孝、菊池尚美、于秀軍、篠崎たき子

権利者：公益財団法人東京都医学総合研究所

種類：特許

番号：5122190

取得年月日：平成24年11月2日

国内外の別：国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

楯林 義孝（TATEBAYASHI YOSHITAKA）

公益財団法人東京都医学総合研究所・精神行動医学研究分野・副参事研究員

研究者番号：80342814

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし