

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 6 日現在

機関番号：33910

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23700491

研究課題名(和文)脳イメージングによるうつ症状評価法の検討

研究課題名(英文)The estimation of depression by brain imaging

研究代表者

山田 貴史 (YAMADA, Takashi)

中部大学・応用生物学部・助手

研究者番号：50531860

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：本研究課題は、うつ病の早期診断および、抗うつ薬の治療効果観察のために脳画像診断法を確立する事を目的として、動物PET装置を用い、うつ症状の原因因子とされる脳内モノアミン類、特にセロトニンの脳内分子イメージングによる同代謝系の定量性を評価した。特に、セロトニントランスポーター測定用放射性リガンド薬剤の使用によって、ラットの脳内セロトニントランスポーター量の定量解析を行い、ラットの月齢によるセロトニントランスポーター量の変化をとらえる事ができた。また、ストレス負荷を行った動物については、脳イメージングとともに、脳内セロトニンの定量やトランスポーターmRNAの発現量解析を行い、それらを比較検討した。

研究成果の概要(英文)：In this study, we estimated an effectiveness of PET imaging for evaluating depression and we measured brain monoamine component, especially serotonin transporter. We used serotonin transporter ligand ^{11}C -DASB, obtained rat brain serotonin transporter image by some age group. Then, we suggested expression of serotonin transporter was differ in some age group, and the difference could distinguish by brain imaging. In addition, we compared with brain serotonin transporter image and amount of brain serotonin, transporter expression level in rats which received physical stress. From these results, we suggested that PET imaging would be effectual tool for brain serotonin component and estimating the condition of the depression.

研究分野：脳神経科学

科研費の分科・細目：融合基盤脳科学・脳イメージング

キーワード：脳イメージング 動物PET

1. 研究開始当初の背景

(1) 近年、PET や MRI を用いた脳内分子イメージングによる脳疾患の早期診断法の有効性を示す臨床調査結果が多数報告されている。特にアルツハイマー病に関する研究が盛んに行われており、FDG や PIB による PET イメージングや、MRI による海馬の脳委縮度分析などが臨床実施されている。しかしながら、鬱病のイメージングに関してはいまだ明確な診断手法は確立されていない。鬱病の分子イメージング診断が困難である理由として、(i) アルツハイマー病における A β のような、疾患の特異的な分子マーカーがないこと。(ii) 疾患のリスク要因は多岐にわたるが、どの時点で脳内神経伝達機構の変化が起こり、鬱症状が確認されるのかは明確になっていない。以上の 2 要因が挙げられる。鬱病は脳内モノアミン(セロトニン・ドーパミン・ノルアドレナリン)の代謝異常が主な病因であることが明らかにされており、特にモノアミントランスポーターは抗うつ薬のターゲットとなっている。したがって PET によりモノアミン類の代謝異常のパターンを捉えることができれば、鬱病の診断や抗うつ薬の治療効果の評価に貢献できると考える。

(2) 臨床における鬱病のリスク要因は多岐にわたり、それぞれの因子が相加的・相乗的にモノアミン神経伝達に影響を与えていると考えられる。しかしながら、それらの要因が一樣に同様のモノアミン代謝系に影響を与えるかは不明である。そこで PET による鬱病の評価を検討するに当たり、異なる種類(例えば、精神的ストレス、身体的ストレスや不眠、食事などの生活環境)の鬱病リスク要因を与えることで脳内モノアミン代謝にどのような影響を与えるのかを明らかにすることは、臨床での脳イメージングによるうつ病の判定を可能にするために非常に重要であると考えられる。

2. 研究の目的

(1) 動物用 PET による脳内モノアミン代謝の画像化の検討およびラット健常脳画像データの構築

セロトニン、ドーパミンそれぞれのトランスポーターと受容体のラット健常脳の画像パターンを習得する。セロトニンに関しては、WAY100635 や DASB などが、ドーパミンに関しては -CFT や raclopride など既知の PET 測定用薬剤が数種類存在する。これらの PET 測定用薬剤を用い、それぞれの受容体・

トランスポーターの定量性を評価する。定量性の良い薬剤を選定した後、その薬剤を用いて健常状態のラット脳内モノアミン機構の画像パターンを構築する。動物実験の報告などから、脳内モノアミン神経伝達物質の量や受容体の発現量は年齢により変化する事が明らかであることから、画像パターンの構築については成長期から老年期までのラットについて網羅的に行う。セロトニン、ドーパミンの各受容体・トランスポーターについて薬剤の選定を検討する予定であるが、定量性が良い薬剤を決めたい順次それぞれの薬剤について画像パターンの構築の検討に移る。検討する候補薬剤の数が多岐にわたるから、すべてのモノアミン伝達機構についてのイメージングを行うことを主目的とせず、その後の鬱症状を PET 測定にて画像化することに研究目的の重点を置く。特に、鬱病との関連が多く報告されており臨床における主要ターゲットであるセロトニン代謝系について積極的に検討する。

(2) 鬱病要因を加えたときのモノアミン代謝の変化を PET 測定により評価する

上述(1)で健常脳でのモノアミン代謝パターンの画像を得た後に、ストレスを与えた鬱症状惹起ラットを用い、PET 測定によりモノアミン代謝の変動の画像化を検討する。PET 測定により鬱症状惹起ラットの脳内モノアミン機構の画像を習得した後に、ラットの脳内モノアミン量、受容体・トランスポーター発現量を生化学的に定量する。PET 測定で得た画像と生化学的解析を比較し、鬱症状の惹起によるモノアミン代謝の変化を PET 画像により捉えることができるか検討する。また、生活環境の変化による脳内モノアミン代謝が変化し、かつそれが PET 測定によってとらえる事ができるかについても観察する。

3. 研究の方法

セロトニンおよびドーパミン神経伝達機構のリガンドを放射線標識し、動物 PET のダイナミックスキャンを行った。解析画像からラット健常脳のモノアミン神経伝達機構の画像パターンを構築した。PET スキャン後、HPLC 分析、定量的 PCR およびウェスタンブロット法により、ラットの脳内セロトニンの量とドーパミン量、それら受容体、トランスポーターの発現量を生化学的に定量解析した。測定は 3, 12, 24 カ月齢のラットを用いて検討した。次に、ラットにストレスを付加し、鬱様症状を惹起させたラットを作成した。

また、セロトニンの前駆物質であるトリプトファンを欠乏させた食餌をラットに摂取させ、トリプトファン欠乏ラットを作成した。鬱様症状惹起ラットもしくはトリプトファン欠乏ラットを用い、モノアミンの代謝機構の動物 PET スキャンおよび生化学的定量解析を行うと共に、取得した PET 画像と生化学的定量解析結果の相関性について解析し、PET 画像によるモノアミン代謝変化の検出能を評価した。

(1) 動物 PET 測定による正常ラットの脳内モノアミンイメージング

【モノアミン測定用の PET 測定用薬剤の合成・標識】セロトニンとドーパミンのトランスポーターの測定には既知の PET 測定用薬剤を用いてモノアミンイメージングを検討した。薬剤の合成には、医療用サイクロロン(CYPRISHM-18、住友重機械工業)および自動合成装置(CUPID F-1、住友重機械工業)を用い、薬剤に応じて ^{11}C で標識した。

【PET/CT による脳内モノアミンイメージング】測定には高分解能動物用 PET(FX-3000; Gamma medica-Ideas Inc.)を使用し、麻酔下で測定を行った。使用する動物は Fisher 系雄ラットを用い、3、12、24 月齢について測定した。測定した画像からラット健常脳のセロトニン・ドーパミンイメージのデータベースを構築した。

(2) モノアミン代謝機構の生化学的な定量解析

【モノアミンの定量】セロトニン、ドーパミンとそれぞれの代謝物の脳内含有量 HPLC により定量した。【mRNA 発現量の定量】セロトニン、ドーパミン、ノルアドレナリンそれぞれの主要な受容体・トランスポーターのサブタイプについて定量的 PCR による定量を行った。【タンパク質発現量の定量】mRNA 発現量の定量と同じ項目について定量を行った。

(3) ストレス負荷によるうつ症状モデルラットまたは、トリプトファン欠乏食摂取ラットの脳内モノアミンイメージング

【うつ症状の惹起】フットショックストレスシステム(MODEL MFS-01; Muromachi Kikai co., LTD)による身体的ストレスをラットに与え、鬱症状を惹起させた。フットショックストレスのかかる箱にラットを入れ、1 回数秒のフットショックストレスをランダムに 15 分間与えた。この操作を 2 週間続け、うつ症状モデルラットとした。また、トリプトファン欠乏ラットについては、AIN-93 組成のアミノ酸バランスの中から、トリプトファンをなくしたアミノ酸混合飼料を作成し、2 週間ラットに自由摂取させて、トリプトファン欠乏ラットを作成した。

うつ症状モデルラットおよびトリプトファン欠乏食摂取ラットを用いた脳内モノアミン代謝の PET スキャンおよびモノアミン代謝機構の生化学的な定量解析は、前項(1)動物 PET 測定による正常ラットの脳内モノアミンイメージングと同様の方法で行った。

4. 研究成果

(1) 脳内ドーパミントランスポーター測定薬剤 ^{11}C -DASB およびセロトニントランスポーター測定薬剤 ^{11}C -DASB の合成を行い、各薬剤を用いて 3,12,24 か月齢ラットの PET 撮像を行った。その結果、加齢に伴い、大脳皮質のセロトニントランスポーターおよびドーパミントランスポーターの薬剤結合が増加した。これは、加齢とともに各トランスポーターの発現が増加している事を示唆している。

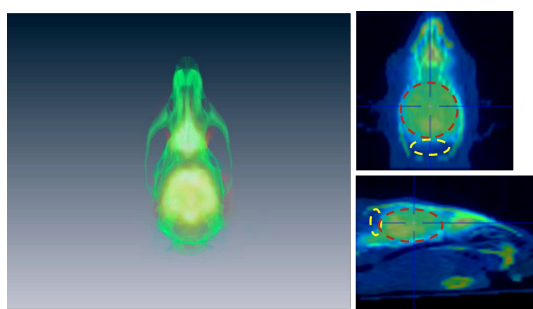


図1 セロトニントランスポーターのリガンド ^{11}C DASBによる定量PETイメージング

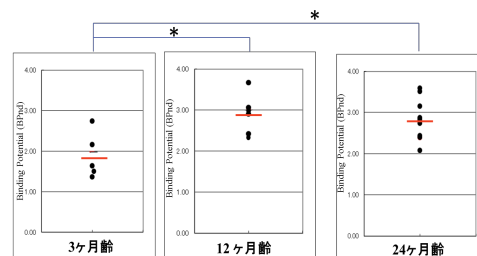


図2 大脳皮質のセロトニントランスポーターへの ^{11}C DASB 結合能

(2) 脳内モノアミン量の測定および、受容体、トランスポーターの遺伝子およびタンパク質発現量の解析を行った結果、加齢に伴い、大脳皮質でのセロトニンの量、脳のセロトニンの代謝物量およびセロトニントランスポーターの有意な増加が観察された。

(3) フットショックストレスを付加した 24 か月齢ラットの ^{11}C -DASB および ^{11}C -DASB による PET イメージング解析結果では、ストレス負荷による薬剤の結合割合の変化は観察されなかった。

(4) フットショックストレスを付加した 24 か月齢ラットの脳内セロトニンおよびドーパミンの受容体、トランスポーター発現量は、ストレスをかけていないラットと比べ変化

は観察されなかったが、大脳皮質および視床下部のセロトニン量およびセロトニン代謝物の有意な増加が観察された。

(5) トリプトファン欠乏食摂取 24 か月齢ラットの 11C-β-CFT および 11C-DASB による PET イメージング解析結果では、トリプトファン欠乏により 11C-β-CFT の脳内結合割合には変化がなく、ドーパミントランスポーターの発現量には影響を及ぼさない事が示唆されたが、一方で、11C-DASB の結合割合の増加が観察されたことから、セロトニントランスポーターが増加したことが示唆された。

(6) トリプトファン欠乏食摂取 24 週齢ラットの脳内セロトニンおよびドーパミンの受容体発現量は、ストレスをかけていないラットと比べ変化は観察されなかったが、大脳皮質および視床下部のセロトニントランスポーター発現量、セロトニン量およびセロトニン代謝物の有意な増加が観察された。

(7) 本研究の結果から、ラットの脳内モノアミンの代謝機構について、セロトニンおよびドーパミンのトランスポーター発現量について、合成した 11C-β-CFT および 11C-DASB 薬剤により、各トランスポーターの画像定量解析を行う事が出来た。また、月齢の異なるラット間での画像定量解析を用いることで、セロトニントランスポーターの発現量に有意な差を観察する事ができ、この結果は脳内セロトニン濃度測定によるセロトニン増加やセロトニントランスポーターの発現定量解析の結果と一致した。

ストレス負荷を行った高齢ラットについては、PET 測定による画像解析および生化学解析の両方でドーパミン、セロトニンの測定結果には差は観察されなかったが、トリプトファン欠乏食摂取ラットについては、11C-DASB の PET 測定により、薬剤の結合が増加し、脳組織の解析においてもセロトニントランスポーターの発現量の増加も観察された。一方で、脳内セロトニン量の減少が観察された。

以上の結果から、PET 測定によりセロトニン代謝機構の変動を観察することで、うつ症状に関する変化を捉えられる可能性が示唆された。また、セロトニントランスポーターの分布は加齢により変化し、この変化が PET 測定結果にも影響を及ぼすため、年齢を考慮した PET 脳イメージの解析を検討する必要がある事が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔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

山田 貴史 (YAMADA, Takashi)
中部大学・応用生物学部・助手
研究者番号: 50531860