

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 20 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24590657

研究課題名(和文) 神経細胞およびアストロサイト機能調節による治療抵抗性うつ病の病態解明と治療薬開発

研究課題名(英文) The elucidation of depression and treatment-resistant depression for interaction of neuron and astrocyte function

研究代表者

北村 佳久 (KITAMURA, YOSHIHISA)

岡山大学・大学病院・准教授

研究者番号：40423339

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は既存の抗うつ薬が無効である「治療抵抗性うつ病」に対する有効な治療薬の開発と病態機序の解明である。申請者が開発した「治療抵抗性うつ病モデル」を用いて検討した結果、セロトニン1A受容体作用薬および電気けいれん療法は治療抵抗性うつ病に対して有効な治療法であることを明らかにした。特に、電気けいれん療法の抗うつ効果の作用機序として、海馬における神経新生の亢進が関与し、その亢進には、CREB-BDNF経路の活性化によるものであることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：We previously reported that chronic treatment of rats with ACTH may be an effective model of tricyclic antidepressant treatment-resistant conditions. Electroconvulsive stimuli and 8-OH-DPAT increased cell proliferation in both saline-treated and ACTH-treated rats. Electroconvulsive stimuli and 5-HT1A receptor full agonist, 8-OH-DPAT significantly decreased the duration of immobility following repeated administration of ACTH. Electroconvulsive stimuli treatment increased mature-brain-derived neurotrophic factor (BDNF) protein levels in the hippocampus of both saline-treated and ACTH-treated rats. Furthermore, electroconvulsive stimuli increased phospho-Ser133-CREB (pCREB) levels and the ratio of pCREB/CREB in both saline-treated and ACTH-treated rats. These findings suggest that the treatment-resistant antidepressant effects of electroconvulsive stimuli and 5-HT1A receptor full agonist may be attributed, at least in part, to an enhancement of hippocampal cell proliferation.

研究分野：精神神経薬理学

キーワード：治療抵抗性うつ病 神経新生 電気けいれん療法 セロトニン1A受容体 脳由来神経栄養因子

1. 研究開始当初の背景

がん・脳卒中・心臓病・糖尿病に「精神疾患」が新たに加わり、「5大疾病」と呼ばれている。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、現在約104万人とも言われ、重大な社会問題となっている。うつ病は毎年3万人を超える自殺者の主な要因でもあり、経済的損失は約2.7兆円に上るともいわれており、国家的な対策が必要である。

薬物療法は「うつ病」の治療法として大きな成果を上げているが、同時に問題点もある。すなわち、「うつ病」の約30%が既存の抗うつ薬が無効な「治療抵抗性うつ病」である。「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いない。この問題の克服のため、「治療抵抗性うつ病」の実態研究とともに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である。これまで我々はこの問題を解決するために動物モデルを作製した。すなわち、視床下部・下垂体・副腎皮質系の過活動に着目し、下垂体ホルモンであるadrenocorticotrophic hormone (ACTH) を反復投与したラットおよびマウスは既存の抗うつ薬の抗うつ効果が消失するという、「治療抵抗性うつ病」の動物モデルを見出し、その有用性を明らかにしてきた。

一方、これまでの研究により、脳の特定の領域では、生涯にわたって神経新生が生じることがわかっている。さらに、日々作られる神経細胞は実際に機能を担っていることも明らかとなっている。近年、ラットやマウスにストレスを与えると中枢におけるこの神経新生は低下することに加えて、抗うつ薬を投与すると神経新生が促進されることより、神経新生の低下はうつ状態と関連する可能性が多く報告されるようになってきた。すなわち、内在する神経幹細胞を如何に活性化させ神経新生を向上させるかが、抗うつ効果に極めて重要であることが提唱されている。これまで申請者は平成21-23年度科学研究費補助金の支援を受けて、申請者が作製した視床下部・下垂体・副腎皮質系過活動状態である「治療抵抗性うつ病」モデル(ACTH反復投与ラット)では海馬歯状回における神経新生が抑制され、この抑制作用は既存抗うつ薬では改善されないこと、すなわち臨床との相関を明らかにした。また、抗うつ薬に抵抗性を有する患者に対する有効性が知られているリチウムと抗うつ薬の併用投与は本モデルにおいても、抗うつ効果を示し、海馬歯状回における神経新生抑制は回復することも明らかにしている。つまり、治療抵抗性うつ病では神経新生が抑制され、この抑制は既存の抗うつ薬では改善できず、治療抵抗性うつ病回復には神経新生の正常化が必要であることを明らかにしている。

近年、中枢における神経細胞と各種グリア細胞(アストロサイト、ミクログリア等)は

機能的に密接な関係を有していることが明らかにされてきた。これらの発見により、新たなうつ病治療薬の作用機序として、これまでのモノアミン神経賦活作用とは異なりアストロサイトを代表とするグリア細胞保護の観点からの可能性が考えられるようになった。

このような学術的背景より、本研究ではこの治療抵抗性うつ病モデルを用いることによりさらなる治療抵抗性うつ病の病態解明および新たな治療戦略の構築への足掛かりをつかみたい。

2. 研究の目的

本研究の目的は既存の抗うつ薬が無効である「治療抵抗性うつ病」に対する有効な治療薬の開発と病態機序の解明である。申請者が開発した「治療抵抗性うつ病モデル」を用いる。この動物モデルは神経-アストロサイトの機能低下を反映しており、神経新生促進およびアストロサイト保護作用に関する研究を展開するには有用である。そこで、本モデルを用いて抗うつ効果に重要であるセロトニン神経系のセロトニン1A受容体機能と電気けいれん療法における神経新生促進およびアストロサイト保護作用機序の解明を通じて治療抵抗性うつ病の病態像を明らかにする。これら結果は次世代抗うつ薬創薬に有益な基礎的情報となる。

3. 研究の方法

(1) ACTH反復投与ラットを用いたセロトニン1A受容体機能関連薬および電気けいれんの神経新生に対する影響

□各種セロトニン1A受容体機能関連薬および電気けいれんの抗うつ効果の網羅的検索

抗うつ薬スクリーニングモデルである強制水泳法を用いて、セロトニン1A受容体作用薬である8-OH-DPAT、tandospironeおよび電気けいれんの抗うつ効果を評価した。

□神経新生機能に対する各種セロトニン1A受容体機能関連薬および電気けいれんの影響

申請者はチミジンアナログであるbromodeoxyuridine (BrdU)投与による検討でACTH反復投与ラットでは海馬顆粒細胞下層における神経新生の抑制を示すことを報告している。そこで、8-OH-DPATおよび電気けいれんによる影響について検討を行った。(2) ACTH反復投与ラットを用いたアストロサイト発現に対する影響

ACTH反復投与によるアストロサイト発現(活性化アストロサイトマーカーであるGFAPを指標)に与える影響について検討を行う。

(3) ACTH反復投与ラットを用いたセロトニン1A受容体機能関連薬および電気けいれんの神経新生に対する細胞内情報伝達系に対する影響

現在、うつ病の病態および抗うつ効果には

脳内に豊富に存在する脳由来神経栄養因子 (Brain Derived Neurotropic Factor: BDNF) の関与が注目されている。申請者はすでに ACTH 反復投与ラットにおいて BDNF mRNA 量が低下することを明らかにしている。さらに、この BDNF 発現は cAMP response binding protein (CREB) によって調整されている。そこで、ACTH 反復投与ラットを用いて pro-BDNF および mature-BDNF 含量に対する経時的な変化を検討する。さらに、セロトニン 1A 受容体機能関連薬および電気けいれんの影響を検討した。

4. 研究成果

セロトニン 1A 受容体完全作動薬である 8-OH-DPAT および電気けいれんは ACTH 反復投与モデルにおいて抗うつ効果を示した。一方、我々は ACTH 反復投与モデルにおいて、海馬歯状回における神経新生は抑制されることを明らかにしている。そこで、ACTH 反復投与ラットで抗うつ効果を示した 8-OH-DPAT および電気けいれんについて、同様に海馬歯状回における神経新生に与える影響について検討を行った。その結果、8-OH-DPAT および電気けいれんは ACTH 反復投与により神経新生抑制作用に拮抗した。また、ACTH 反復投与モデルにおいて海馬歯状回のアストロサイトの動態を明らかにするために、アストロサイトマーカーである GFAP の発現量を検討した。その結果、GFAP の有意な発現量の低下を認めることが出来なかった。

うつ病の病態および抗うつ効果には脳内に豊富に存在する BDNF の関与が注目されている。8-OH-DPAT および電気けいれんは ACTH 反復投与により神経新生抑制作用の機序を明らかにする目的で本モデルを用いて海馬 BDNF 量に対する影響について検討を行った。その結果、8-OH-DPAT は影響しなかったが、電気けいれんにより、有意な増加が認められた。その増加には CREB-BDNF 経路の活性化が関与していることを明らかにした。さらに、正常ラットにおいても電気けいれんは海馬歯状回における神経新生を有意に増加させることも明らかにした。

以上の結果より、治療抵抗性うつ病の病態には海馬における神経新生の抑制が関与し、その改善にはセロトニン 1A 受容体機能および CREB-BDNF 経路の活性化が関与していることを明らかにした。

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 6 件)

1. Tsutsui T., Shinomiya K., Sendo T., Kitamura Y., Kamei C. Effects of the 5-HT1A receptor agonist tandospirone on ACTH-induced sleep disturbance in rats. *Biol. Pharm. Bull.* (in press)

査読有

2. Kitamura Y., Hayashi H., Onoue Y., Kuwatsuka K., Miyake A., Miyazaki I., Asanuma M., Sendo T. Effects of imipramine and lithium on the expression of hippocampal Wnt 3a and cyclin D1 in ACTH-treated rats. *Journal of Behavioral and Brain Sciences* 4: 483-490, 2014 <http://dx.doi.org/10.4236/jbbs.2014.411048> 査読有
3. Miyake A., Kitamura Y., Miyazaki I., Asanuma M., Sendo T.: Effects of (+)-8-OH-DPAT on the duration of immobility during the forced swim test and hippocampal cell proliferation in ACTH-treated rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 122: 240-245, 2014 <http://dx.doi.org/10.1016/j.pbb.2014.04.003> 査読有
4. Onoue Y., Kuwatsuka K., Miyazaki I., Asanuma M., Kitamura Y., Sendo T.: Effects of bupropion and pramipexole on cell proliferation in the hippocampus in adrenocorticotrophic hormone-treated rats. *Biol. Pharm. Bull.* 37: 327-330, 2014 <http://doi.org/10.1248/bpb.b13-00749> 査読有
5. Li B, Suemaru K., Kitamura Y., Gomita Y., Araki H., Cui R.: Imipramine-induced c-Fos expression in the medial prefrontal cortex is decreased in the ACTH-treated rats. *J. Biochem. Molecular Toxicology* 27:486-491, 2013 <http://doi.org/10.1002/jbt.21510> 査読有
6. Kuwatsuka K., Hayashi H., Onoue Y., Miyazaki I., Koyama T., Asanuma M., Kitamura Y., Sendo T.: The mechanism of electroconvulsive stimuli in BrdU-positive cells of the dentate gyrus in ACTH-treated rats. *J. Pharmacol. Sci.* 122:34-41, 2013 <http://doi.org/10.1254/jphs.13015FP> 査読有

[学会発表](計 5 件)

1. Kitamura Y., Miyake A., Hattori S., Koyama T., Miyazaki I., Asanuma M., Sendo T. Involvement of the 5-HT1A receptor function in the 8-OH-DPAT treatment on neurogenesis in ACTH-treated rats. *Neuroscience* 2013 (San Diego: USA) 2013.11.9
2. Nakamura H., Yoneda S., Miyake A., Koyama T., Miyazaki I., Asanuma M., Kitamura Y., Sendo T.: Ketamine exerts antidepressant-like effects during

the forced swim test in
adrenocorticotrophic hormone-treated
rats. Neuroscience 2013 (San Diego:
USA) 2013.11.9

3. 中村紘子、米田紗緒里、野白有里子、宮崎育子、浅沼幹人、北村佳久、千堂年昭：ACTH 反復投与ラットにおける ketamine の抗うつ効果に関する検討 日本薬学会第 134 年会 2014.3.29 熊本
4. 三宅彩香、北村佳久、服部紗代、小山敏広、宮崎育子、浅沼幹人、千堂年昭：ACTH 反復投与ラットにおける 5-HT1A 受容体アゴニストの抗うつ効果および海馬神経新生に与える影響 第 86 回日本薬理学会年会 2013.3.22 福岡
5. 三宅彩香、小山敏広、宮崎育子、浅沼幹人、北村佳久：ACTH 反復投与ラットにおける 5-HT1A 受容体アゴニストの海馬神経新生および細胞内シグナリング伝達系に関する検討 第 6 回次世代を担う若手医療科学シンポジウム 2012.11.24 京都

〔図書〕(計 0 件)

〔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：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

北村 佳久 (KITAMURA YOSHIHISA)
岡山大学病院・准教授
研究者番号：40423339

(2)研究分担者

浅沼 幹人 (ASANUMA MASATO)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・

教授

研究者番号：00273970