

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 22 日現在

機関番号：85402

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：24790106

研究課題名(和文) うつ病の新規治療標的分子としてアストロサイト由来トロンボスポンジンに関する研究

研究課題名(英文) Investigation of the thrombospondin-1 as a novel therapeutic target molecule for depression.

研究代表者

岡田 麻美 (Okada-Tsuchioka, Mami)

独立行政法人国立病院機構(呉医療センター臨床研究部)・その他部局等・研究員

研究者番号：30517280

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：電気けいれん療法の動物モデルである電気けいれん刺激(ECS)と抗うつ薬の慢性投与がシナプス新生を促進するアストロサイト由来分泌因子であるthrombospondin-1(TSP-1)の発現に与える影響を検討した。その結果、ECSの複数回施行が脳内において少なくとも部分的にアストロサイトの活性化を介してTSP-1を誘導することが明らかになった。一方、抗うつ薬の慢性投与ではTSP-1の増加は見られなかった。従って、TSP-1誘導作用はECSの作用メカニズムに特異的に関与している可能性が示唆された(Okada-Tsuchioka M et al., 2014)。

研究成果の概要(英文)：In this study, I have focused on thrombospondin-1 (TSP-1), an astrocyte-derived synaptogenic factor, as a novel therapeutic target for depression. I have investigated the effects of electroconvulsive seizure (ECS), an animal model of electroconvulsive therapy (ECT), and chronic treatment with antidepressants on the expression of TSP-1 in the adult rat hippocampus. I have revealed that repeated ECS, but not chronic treatment with antidepressants, induced TSP-1 expression partially via the activation of astrocytes. Therefore, TSP-1 is possibly involved in the effects of ECT (Okada-Tsuchioka M et al., 2014).

研究分野：生物系薬学

キーワード：シナプス新生 電気けいれん療法 アストロサイト thrombospondin-1

1. 研究開始当初の背景

うつ病の治療に用いられる多くの抗うつ薬は、共通してセロトニンあるいはノルアドレナリンなどモノアミンの再取り込みを阻害する作用を有することから、モノアミン仮説が提唱されてきた。しかしながら、抗うつ薬は投与後すぐに脳内においてモノアミン濃度を増加するにもかかわらず、臨床において抗うつ薬の治療効果が発現するには数週間の時間を要し、モノアミンだけではこのタイムラグは説明できない。従って、うつ病の病態や抗うつ薬の作用メカニズムにモノアミン以降あるいはモノアミン以外の分子カスケードの関与が考えられてきた。

近年の脳画像および死後脳研究により、うつ病において海馬組織の委縮や脳の特定の部位におけるグリア細胞の数の減少をはじめとする器質的な異常とうつ病との関係が報告されている (Öngür et al., 1998 など)。

神経新生 (neurogenesis) は発生期に盛んにみられるが、成体脳においてもある限られた領域で起こっていることが明らかにされ、神経新生が抗うつ作用に関連する報告がなされている。しかしながら脳全体のわずか数%にすぎない神経新生が脳全体の機能を調整して抗うつ作用を発揮することに関して疑問視する報告も近年相次いでいる (Surget et al., 2008; Jayatissa et al., 2009; Bessa et al., 2009; Hanson et al., 2011)。

そこで、われわれは抗うつ効果の関与する表現型として神経新生だけでなく、脳全体にはるかに多く存在する可塑的变化としてシナプス新生 (synaptogenesis) に着目した。シナプスの周囲にはアストロサイトも取り囲むように存在しており (tripartite synapse 構造) 構造的にもアストロサイトとの密接な関与が示唆される。さらに最近アストロサイトから分泌されるシナプス新生促進因子として thrombospondin-1 (TSP-1) がはじめて世界で報告された (Christpharson et al., 2005)。

研究開始当初までにわれわれは、うつ病の最も強力な治療法である電気けいれん療法 (electroconvulsive therapy: ECT) の動物モデルである電気けいれん刺激 (electroconvulsive seizure: ECS) をラットに施行すると海馬の TSP-1 の発現が増加し、シナプス新生が増加する可能性を示す予備的なデータを得ていた (北米神経科学会 2011 年で発表)。また、ノルアドレナリン刺激により培養海馬アストロサイトにおいて TSP-1 が強力に誘導され

ることも明らかにしていた (未発表データ)。しかしながら、その生物学的意義やメカニズムの詳細は明らかではなかった。

2. 研究の目的

既存の抗うつ薬は臨床現場において効果発現に時間を要すること、自殺や難治例の問題が挙げられる。またうつ病の客観的な治療マーカーは確立していない。従って、これまでとは異なる新しい視点に立った、うつ病の治療法および治療マーカーの確立が急務である。そこで本研究では、うつ病の新規治療標的分子としてシナプス新生を誘導するアストロサイト由来分泌因子 TSP-1 に着目し、TSP-1 発現機構がどのように抗うつ作用に寄与するかを明らかにする。また、うつ病患者の血中 TSP-1 を測定し、健常者との比較や治療前後での変化を検証することで、うつ病の診断・治療マーカーとしての有用性を検証する。

3. 研究の方法

【1】ECS および抗うつ薬の慢性投与がラット海馬における TSP-1 発現に与える影響の検討:

ラットに ECS を施行後、海馬を摘出し、mRNA の抽出あるいはタンパクの抽出を行った。単回施行群と、複数回施行群 (1日1回、10日間施行) を作成した。TSP-1 をはじめとするシナプス新生促進因子およびグリアの活性化マーカーである glial fibrillary acidic protein (GFAP) の mRNA レベルについては、real time-PCR 法を用いて行った。

TSP-1 および GFAP のタンパクレベルについては、TSP-1 および GFAP の各特異的抗体を用いたウェスタンブロット法を用いて測定した。

ラットに抗うつ薬 (三環系抗うつ薬: デシプラミン、セロトニン選択的再取り込み阻害薬: パロキセチン) を1日1回21日間慢性投与し、海馬を摘出後、mRNA あるいはタンパクを抽出した。および同様の方法で TSP-1 および GFAP を測定した。

【2】グリア細胞における ECS 関連因子による TSP-1 発現誘導機構の検討:

培養アストロサイトにモノアミン (セロトニン、ノルアドレナリン) ECS で誘導される因子 (ATP、グルタミン酸) 抗うつ薬、神経栄養因子・増殖因子などを処置し、mRNA あるいはタンパクを抽出した。

TSP-1 の mRNA レベルを real time-PCR 法を用いて測定した。

TSP-1 のタンパクレベルを TSP-1 の特異的抗体を用いたウェスタンブロット法を用いて測定した。

【3】うつ病の診断・治療マーカーとしての血中 TSP-1 の有用性に関する検討：

研究協力者（呉医療センター 精神科・臨床研究部 竹林 実 科長・副部長）の支援により、文書による説明と同意を得た精神疾患の ECT 施行患者および年齢と性別について統制された健常者から血液を採取した。

匿名化かつ患者情報がブラインド化された状態で血中 TSP-1 を enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)法を用いて測定した。

健常者群と患者群での血中 TSP-1 値を比較した。また、患者群においては、ECT 施行前後での血中 TSP-1 値の変化を解析した。

4．研究成果

【1】ECS 単回施行では、TSP-1 mRNA の時間依存性の変化が見られた。また、複数回施行では、TSP-1 mRNA の他に、Glypican-4, secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC) といった、他のシナプス新生促進因子の増加が見られた。さらに、TSP-1 については、複数回施行によりタンパクレベルでも増加することが明らかになった。また、アストロサイト活性化マーカーでは GFAP は TSP-1 の増加に先立って増加していることが明らかとなり、ECS が脳内において少なくとも部分的にアストロサイトの活性化を介して TSP-1 をはじめとするシナプス新生促進因子を増加していることが明らかになった。一方、抗うつ薬の慢性投与では TSP-1 や GFAP の増加は見られなかった。したがって、TSP-1 誘導作用は ECT の作用メカニズムに特異的に関与している可能性が示唆された。TSP-1 はアストロサイトから分泌されるシナプス新生促進因子として最初に発見され、シナプス構造の新規形成とシナプス前部の活性化を行うが、シナプス後部の成熟には関与していない。一方、Glypican-4 や SPARC はシナプス後部の成熟に関与しているシナプス新生促進因子であることが報告されている。以上のことから、ECS はシナプス新生の一連の過程に影響を与えていることが、示唆された(Okada-Tsuchioka M. et al., Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 2014)。

【2】培養アストロサイトにおいて、ノルアドレナリン、グルタミン酸あるいは ATP の処置により TSP-1 が誘導された。一方、セロトニン、ドパミンなどのモノアミン、脳由来神経栄養因子(brain-derived neurotrophic factor: BDNF)、グリア細胞株由来神経栄養因子(glial cell line-derived neurotrophic factor: GDNF)、血管内皮細胞増殖因子(vascular endothelial growth factor: VEGF)などの神経栄養因子・増殖因子処置では TSP-1 の誘導は見られなかった。今後ノルアドレナリン、グルタミン酸、ATP による

TSP-1 誘導機構をシグナル伝達分子阻害薬などを用いて詳細に検討する必要がある。

【3】血中 TSP-1 値は健常者に比べ、患者群の特に女性において低い傾向にあった。ただし、本研究の解析の限りでは ECT の施行に伴う血中 TSP-1 値の有意な変化は見られなかった。今後は、例数の追加や他のシナプス新生促進因子の測定、可能であれば抗うつ薬未服薬で ECT 施行の患者サンプルの解析などが必要になると考えられる。

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1件)

Mami Okada-Tsuchioka, Masahiro Segawa, Naoto Kajitani, Kazue Hisaoka-Nakashima, Chiyo Shibasaki, Shigeru Morinobu, Minoru Takebayashi, Electroconvulsive seizure induces thrombospondin-1 in the adult rat hippocampus. Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry. 48, 査読有, 2014, 236-244

〔学会発表〕(計2件)

1. 岡田(土岡)麻美、瀬川昌弘、梶谷直人、柴崎千代、安倍裕美、中島(久岡)一恵、森信 繁、竹林 実、電気けいれん刺激(ECS)は成体ラット海馬においてシナプス新生作用を有するアストロサイト分泌性 thrombospondin-1(TSP-1)を誘導する, 第23回日本臨床精神神経薬理学会・第43回日本神経精神薬理学会合同年会, 2013年10月24日-26日, 沖縄

2. Mami Okada-Tsuchioka, Naoto Kajitani, Hiromi Abe, Chiyo Shibasaki, Minoru Takebayashi, How does electroconvulsive therapy work for depression? –Involvement of astrocyte-derived synaptogenic factor, thrombospondin-1-, The 7th Kure International Medical Forum (K-INT) in 2014, 2014 July 10-13, Kure

〔その他〕

特になし

6．研究組織

(1)研究代表者

岡田(土岡)麻美 (OKADA-TSUCHIOKA MAMI)

国立病院機構呉医療センター・中国がんセンター 臨床研究部 研究員

研究者番号：30517280

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者
()

研究者番号：