

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 10 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25293252

研究課題名(和文) うつ病の責任脳回路の系統的同定とニューロン・グリア傷害の実像解明

研究課題名(英文) Systematic determination of the neuronal circuit underlying depression and elucidation of the mechanism for neuro-glial injury

研究代表者

神庭 重信 (KANBA, SHIGENOBU)

九州大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：50195187

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,900,000円

研究成果の概要(和文)：うつ病の神経炎症仮説に基づき、動物実験としては、グラム陰性菌内毒素をマウスに投与して、行動および脳内の組織化学的变化について研究した。広範囲に及ぶミクログリアの一過性の活性化は見られたが、それを通じたアストログリア、オリゴデンドログリアへの影響は検出できなかった。ミクログリア活性化阻害物質であるミノサイクリンの投与は、内毒素投与の有無にかかわらず、抑うつ様行動を惹起した。培養細胞系では、ヒト末梢血中の単球から、ミクログリア様細胞を誘導することに成功し、気分障害罹患者を対象とする画像研究でも、拡散テンソル画像を集積した。これらの研究を通じ、うつ病と神経炎症の関連についてさらに知見を深めた。

研究成果の概要(英文)：Based on the neuroinflammation hypothesis of depression, we investigated behavior and brain of the mice which were injected with bacterial endotoxin. Despite of transient activation of the microglia, we could not detect persistent alteration of the marker molecules in the astroglia and oligodendroglia. Minocycline, inhibitor of microglial activation, induced depressive behavior in the tail suspension test in the mice. We also developed a new technique for creating induced microglia-like cells from human peripheral blood. In the MRI study, we accumulated diffuse tensor image of the patients with mood disorder. These results added further information regarding possible interaction between neuroinflammation and depression.

研究分野：精神医学

キーワード：うつ病

1. 研究開始当初の背景

精神疾患、とくにうつ病の神経炎症仮説に基づく研究は、近年増加してきている。うつ病患者の血清・CSF サイトカインやCRPが高値であるとの報告は年々増加し (Dawlati et al., Biol Psychiatry 2010; Vogelzangs et al, Trans Psychiatry 2012)。自殺者の死後脳を用いた研究でも (Steiner J, et al, 2006; 2008) ミクログリアの活性化が認められている。治療薬の開発においてもこれに対応して、向精神薬に抗炎症薬を付加することで抗うつ薬の作用を増強しようとする治験も、さらに増えてきている (Miyaoaka et al., Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 2012 (minocycline); Raison et al., Arch Gen Psychiatry 2012 (infliximab))。このような状況にもかかわらず、うつ病の発生機序や抗うつ薬の作用機序は依然不明な点が多い。

我々はこれまで長年にわたり、精神疾患の解明に向けた神経免疫学的研究を続けてきた (Shintani F et al, J Neuroscience 1993,1995; Suzuki E et al, Neuroscience Lett 1996; Kaneko N et al, Neuropsychopharmacology 2006)。我々はまた、培養細胞を用いた実験において、抗うつ薬と抗精神病薬が、ミクログリア活性化抑制作用を有することを報告してきた (Kato T, et al, J Neurochem 2008; Kato T, et al, Schizophrenia Res 2007 & 2011; Hashioka S, et al, Exp Neurology 2007; Horikawa H et al., 2011 など)。さらに、健常者を対象にした意思決定に関する研究でも、ミノサイクリンの前投与が結果に影響しうることも見出した (Watabe et al., Psychopharmacology 2012; Kato et al., PLoS One 2012)。これらの研究の多くが海外の研究者の総説でもとりあげられている (Soczynska JK et al., Behav Brain Res 2012)。

我々は、リポポリサッカライド (LPS) を用いた免疫負荷を行い、強制水泳試験にて遅発性のうつ病様行動を呈するうつ病モデルマウスを開発してきたが、このモデルでは脳内の限られた部位で、ミクログリアの遷延性の活性化が確認されている。また、マウスの強制水泳試験の際に賦活され、活動性が試験結果と相関を示すニューロンの分布についても、両者の研究で変化が示された脳内部位は一部重なっている点からも、いっそう興味もたれる。つまり我々の研究は、うつ病の神経炎症仮説により明確な基盤を与え、新たな治療薬の開発に貢献しうるものである。

2. 研究の目的

上記の研究背景に基づいて、「うつ病では特定の脳部位で微細な神経炎症が起きているのではないか」という仮説 (神経炎症仮説) を立て、すでに開発した動物モデルを用いて脳病態を明らかにする。次に、明らかにされる脳病態を予防・修復する薬物を探索する。

3. 研究の方法

(1) LPS をマウスに腹腔内投与して、行動の変化およびそれに関連して生じる組織化学的变化を検索する。ミクログリアの活性化に影響する薬剤による前処置が、行動や組織に与える影響を調べる。

(2) 転写因子 c-Fos を標的とする免疫組織化学法により、抗うつ薬の行動試験 (強制水泳試験、尾懸垂試験) の際に賦活される脳内部位、および抗うつ薬の効果と相関して賦活される部位を探索し、(1) の部位との関係を吟味する。

(3) 培養細胞を用いて、ミクログリアの活動を研究する実験系を進展させ、ミクログリアの活性化が組織に与える影響を調べる。

(4) 気分障害 (大うつ病性障害および双極性障害) 罹患者の脳について拡散テンソル画像を撮像し、気分障害罹患者の脳における情報処理の特性を研究する。

4. 研究成果

(1) LPS を投与したマウスの脳における各種グリア系標識物質の発現について、免疫組織化学法による検索を行った。GFAP, S100 β , APC, oligo2, NG2, Iba1 について標本を作製し、さまざまな部位で解析を行ったが、期間内に調べられた限りでは、これらの物質の発現量に持続的な変化が生じているという証拠を見出すことはできなかった (Iba1 の一過性の変化のみ)。ミクログリア活性化阻害薬であるミノサイクリンが LPS 投与の行動上の影響に対して与える影響について研究を進めたところ、予想に反して、ミノサイクリン投与 (50 mg/kg, b.i.d. x 3 d) は尾懸垂試験において7日後も持続する抑うつ行動を惹起させたが、その効果は LPS (0.8 mg/kg, i.p.) 投与の有無とは無関係であった。ミノサイクリンがマウスの行動に及ぼすこの効果の機序について、血液脳関門の損傷が関与しているという仮説を立てて、抗アルブミン抗体による染色を行ったところ、ミノサイクリン投与マウスで染色領域が増加する傾向がみられた。これを受けて、静注蛍光色素の脳内漏出量を吸光度測定することで、血液脳関門の機能低下の定量的評価を試みたが、期間内に結果を出すに至らなかった。

(2) 抑うつ様行動に関連する脳内神経回路について、強制水泳試験と尾懸垂試験を行ったマウスで c-Fos を指標として解析を行い、行動試験に関連して活性化される脳内部位を明らかにした。両試験において、視床下部のいくつかの部位、外側中隔核などの関連領域の重要性が示された。尾懸垂試験において、下辺縁皮質が、セロトニン取り込み阻害薬の前投与によって賦活されるが、ノルアドレナリン取り込み阻害薬ではこの活性化は見られないことが明らかとなった。

(3) Ohgidani らは、ヒトの末梢血の単球から GM-CSF と IL-34 という2種のサイトカイ

ンの刺激によって、標識分子や形態学的特徴、食作用まで呈するミクログリア様細胞を誘導することに成功した。

(4) ヒトを対象とする画像研究では、双極性障害 38 人、大うつ病性障害 32 人、健常者 136 人について、拡散テンソル画像を撮像し、解析を進めている。また、Isomura らの脳磁図による研究では、大うつ病性障害、双極性障害、健常者を対象として、精神疾患のバイオマーカーとして注目されている auditory steady-state response (ASSR) を調べた。その結果、双極性障害群では大うつ病性障害群と比較して、30, 40 および 80 Hz の刺激に対する ASSR power が有意に低いことが分かり、両疾患の鑑別に利用できる可能性が示唆された。

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 8 件)

Isomura S, Onitsuka T, Tsuchimoto R, Nakamura I, Hirano S, Oda Y, Oribe N, Hirano Y, Ueno T, Kanba S. Differentiation between major depressive disorder and bipolar disorder by auditory steady-state responses. *J Affect Disord*. 2016 Jan 15;190:800-6. doi: 10.1016/j.jad.2015.11.034. Epub 2015 Nov 26. PubMed PMID: 26625092.

Ohgidani M, Kato TA, Sagata N, Hayakawa K, Shimokawa N, Sato-Kasai M, Kanba S. TNF- α from hippocampal microglia induces working memory deficits by acute stress in mice. *Brain Behav Immun*. 2015 Nov 10. pii: S0889-1591(15)30006-4. doi: 10.1016/j.bbi.2015.08.022. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 26551431.

Miura T, Noma H, Furukawa TA, Mitsuyasu H, Tanaka S, Stockton S, Salanti G, Motomura K, Shimano-Katsuki S, Leucht S, Cipriani A, Geddes JR, Kanba S. Comparative

efficacy and tolerability of pharmacological treatments in the maintenance treatment of bipolar disorder: a systematic review and network meta-analysis. *Lancet Psychiatry*. 2014 Oct;1(5):351-9. doi: 10.1016/S2215-0366(14)70314-1. Epub 2014 Oct 7. PubMed PMID: 26360999.

Ohgidani M, Kato TA, Kanba S. Introducing directly induced microglia-like (iMG) cells from fresh human monocytes: a novel translational research tool for psychiatric disorders. *Front Cell Neurosci*. 2015 May 27;9:184. doi: 10.3389/fncel.2015.00184. eCollection 2015. PubMed PMID: 26074765; PubMed Central PMCID: PMC4444822.

Nakamura I, Hirano Y, Ohara N, Hirano S, Ueno T, Tsuchimoto R, Kanba S, Onitsuka T. Early integration processing between faces and vowel sounds in human brain: an MEG investigation. *Neuropsychobiology*. 2015;71(4):187-95. doi: 10.1159/000377680. Epub 2015 Jun 2. PubMed PMID: 26044647.

Watabe M, Kato TA, Teo AR, Horikawa H, Tateno M, Hayakawa K, Shimokawa N, Kanba S. Relationship between trusting behaviors and psychometrics associated with social network and depression among young generation: a pilot study. *PLoS One*. 2015 Apr 2;10(3):e0120183. doi: 10.1371/journal.pone.0120183. eCollection 2015. PubMed PMID: 25836972; PubMed Central PMCID: PMC4383339.

Hirano Y, Oribe N, Kanba S, Onitsuka T, Nestor PG, Spencer KM. Spontaneous Gamma Activity in Schizophrenia. JAMA Psychiatry. 2015 Aug;72(8):813-21. doi: 10.1001/jamapsychiatry.2014.2642. PubMed PMID: 25587799; PubMed Central PMCID: PMC4768724.

Okada K, Nakao T, Sanematsu H, Murayama K, Honda S, Tomita M, Togao O, Yoshiura T, Kanba S. Biological heterogeneity of obsessive-compulsive disorder: A voxel-based morphometric study based on dimensional assessment. Psychiatry Clin Neurosci. 2015 Jul;69(7):411-21. doi: 10.1111/pcn.12269. Epub 2015 Feb 9. PubMed PMID: 25556718.

〔学会発表〕(計 件)

Ishisaka N, Miura T, Motomura K, Kaneda Y, Sora I, Shigenobu K. Neurocognitive impairments in bipolar disorder patients. 12th World Congress of Biological Psychiatry. 2015. 06. 16, Megaron Athens International Conference Centre, Athens, Greece.

Hiraoka K, Motomura K, Yanagida S, Ohashi A, Ishisaka N, Kanba S. The response of neuronal activity to antidepressant in the tail suspension test of mice. 12th World Congress of Biological Psychiatry. 2015. 06. 17, Megaron Athens International Conference Centre, Athens, Greece.

〔図書〕(計 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：
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
神庭 重信(KANBA SHIGENOBU)
九州大学・大学院医学研究院・教授
研究者番号：50195187

(2)研究分担者
なし ()
研究者番号：

(3)連携研究者
鬼塚 俊明(ONITSUKA TOSHIKI)
九州大学・大学院医学研究院・准教授
研究者番号：00398059

加藤 隆弘(TAKAHIRO KATO)
九州大学・先端融合医療レドックスナビ・
特任助教
研究者番号：70546465

本村 啓介(KEISUKE MOTOMURA)
九州大学・大学病院・助教
研究者番号：60432944

三浦 智史(TOMOFUMI MIURA)
九州大学・大学病院・助教
研究者番号：90404053