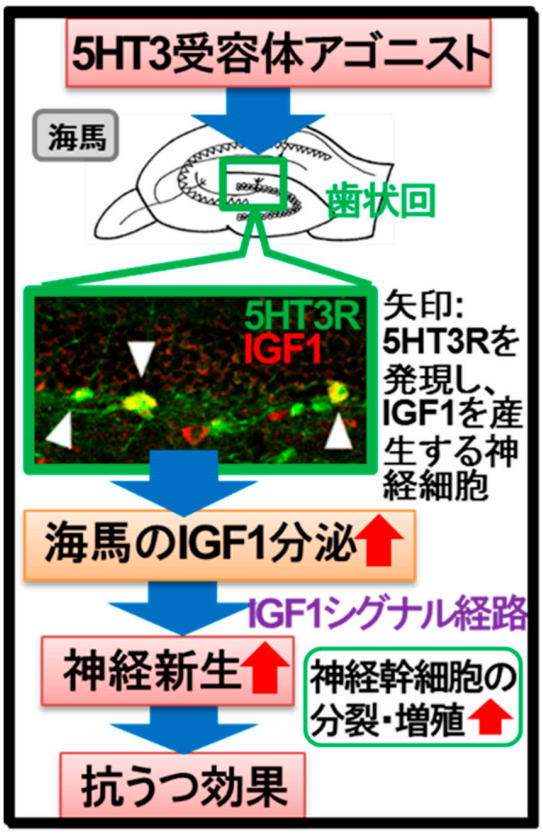
130　抗うつ薬抵抗性の難治性うつ病に対する新規治療薬開発	近藤　誠

【目的】現在、うつ病治療には、SSRI が第一選択薬として用いられているが、寛解率は半数以下であり、既存の抗うつ薬抵抗性の難治性うつ病に対する新たな治療薬開発が望まれている。近年我々は、運動による海馬神経新生の増加や抗うつ効果に、5HT3 受容体が必須の働きをしていることを見出した。本研究では、運動の抗うつ効果に着目してうつ病治療効果の分子機序を解明し、難治性うつ病の治療薬開発を目指す。

【方法】マウスを用いて、5HT3 受容体とうつ行動および海馬神経新生との関連について以下の検討を行った。1. 5HT3 受容体アゴニストがうつ行動に与える影響の薬理学的解析、2．5HT3 受容体アゴニストが海馬神経新生に与える影響の形態学的解析、3．海馬における 5HT3 受容体発現細胞の形態学的解析、4．5HT3 受容体アゴニストが海馬の細胞外液中 IGF1 濃度に与える影響の解析、5．5HT3 受容体アゴニストによる海馬の IGF1 分泌と神経新生との関連の形態学的解析。

【結果】海馬の 5HT3 受容体発現細胞は IGF1 を産生しており、5HT3 受容体アゴニストをマウスに投与すると、海馬の IGF1 分泌が促進され、IGF1 シグナル経路を介して神経新生が増え、既存の抗うつ薬 SSRI と異なる機序で抗うつ効果が得られることを見出した。既存薬と作用機序が異なる、うつ病の新たな治療メカニズムを明らかにした。

うつ病の新たな治療メカニズム



130. 抗うつ薬抵抗性の難治性うつ病に対する新規治療薬開発

近藤　誠

大阪大学 大学院医学系研究科 神経細胞生物学講座

Key words：うつ病，運動の抗うつ効果，海馬神経新生，5HT3 受容体

緒　言

現在、うつ病治療には、選択的セロトニン再取り込み阻害薬（selective serotonin reuptake inhibitor: SSRI）が第一選択薬として用いられているが、寛解率は半数以下であり、SSRI 抵抗性の難治性うつ病に対する新たな治療薬の開発が望まれている。近年我々は、運動による海馬神経新生の増加や抗うつ効果に、5HT3 受容体が必須の役割をしていることを見出した［1，2］。そこで、5HT3 受容体を介する海馬神経新生や抗うつ効果の機序の解明は、運動の抗うつ効果に基づくうつ病の新たな治療薬の開発に繋がり、難治性うつ病治療に役立つのではないかと考えた。そこで本研究では、運動の抗うつ効果に着目し、「5HT3 受容体を介する海馬神経新生・抗うつ効果」の分子機序の解析を行った。そして、マウスを用いた海馬及びうつ行動の解析により、海馬の 5HT3 受容体発現細胞は IGF1 を産生しており、5HT3 受容体アゴニストをマウスに投与すると、海馬の IGF1 分泌が促進され、IGF1 シグナル経路を介して神経新生が増え、既存の抗うつ薬 SSRI と異なる機序で抗うつ効果が得られることを見出した。既存薬 SSRI と作用機序が異なる、うつ病の新たな治療メカニズムを明らかにした［3, 4］。

方　法

マウスを用いて、5HT3 受容体とうつ行動および海馬神経新生との関連について以下の検討を行った。
１．5HT3 受容体アゴニストがうつ行動に与える影響の薬理学的解析（尾懸垂テスト）、２．5HT3 受容体アゴニストが海馬神経新生に与える影響の形態学的解析（BrdU 標識法）、３．海馬における 5HT3 受容体発現細胞の形態学的解析（*in situ* hybridization、免疫組織学法）、４．5HT3 受容体アゴニストが海馬の細胞外液中 IGF1 濃度に与える影響の解析（*in vivo* マイクロダイアリシス法）、５．5HT3 受容体アゴニストによる海馬の IGF1 分泌と神経新生との関連の形態学的解析。

結　果

1. 5HT3 受容体アゴニストがうつ行動に与える影響の薬理学的解析

5HT3 受容体アゴニスト（SR57227A）を野生型マウス（WT）に投与すると、尾懸垂テストにおいて無動時間の減少が見られ、抗うつ効果を認めたが、5HT3 受容体欠損マウス（5HT3R KO）では無動時間の減少は見られなかった（図 1a）。

SSRI は、最も用いられている抗うつ薬であり、Fluoxetine（Flx）は SSRI に属する代表的な抗うつ薬である。WT に Flx を投与すると、濃度依存的に無動時間の減少を示し、抗うつ効果が見られ、20 mg/kg で最大の抗うつ効果が得られた（図 1b）。一方、5HT3R KO においても、Flx により同程度の抗うつ効果が得られた（図 1b）。WT に Flx 20 mg/kg と SR57227A 5 mg/kg を併用投与すると、Flx 20 mg/kg を単独で投与した場合に得られる効果を上回る抗うつ効果が得られた（図 1b）。以上の結果から、5HT3 受容体は Flx による抗うつ効果に関与していないこと、5HT3 受容体アゴニストは Flx と異なるメカニズムで抗うつ効果をもたらすことが示唆された。

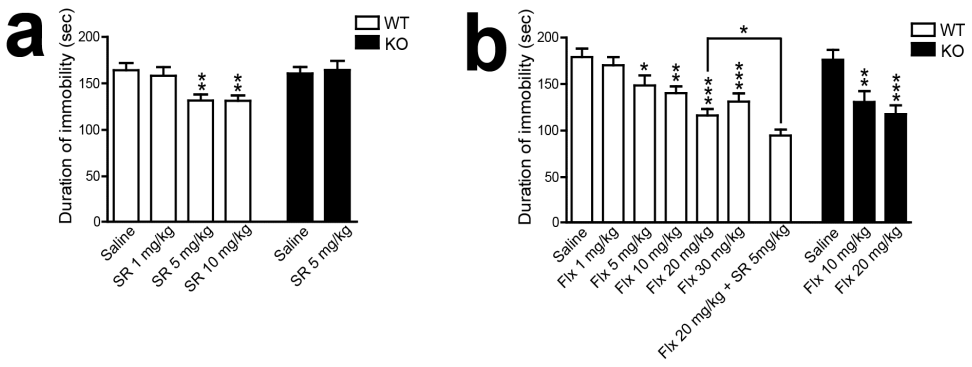


図 1. 5HT3 受容体アゴニストは Fluoxetine と異なるメカニズムで抗うつ効果をもたらす

a）5HT3 受容体アゴニスト（SR57227A）を WT に投与すると、尾懸垂テストにおいて無動時間の減少が見られ、抗うつ効果を認めたが、5HT3R KO では無動時間の減少は見られなかった。b）WT に Fluoxetine（Flx）を投与すると、20 mg/kg で最大の抗うつ効果が得られた。5HT3R KO においても、Flx により同程度の抗うつ効果が得られた。WT に Flx 20 mg/kg と SR57227A 5 mg/kg を併用投与すると、Flx 20 mg/kg を単独で投与した場合に得られる効果を上回る抗うつ効果が得られた。*p < 0.05; **p < 0.01; ***p < 0.001（two-tailed t-test）。

2. 5HT3 受容体アゴニストが海馬神経新生に与える影響の形態学的解析

抗うつ効果の発現には、海馬神経新生が重要であるという報告がある。そこで、5HT3 受容体アゴニストが海馬神経新生に与える影響を、Flx と比較して検討した（図 2a）。WT では、3 日間の SR57227A 投与により、海馬歯状回における分裂細胞（BrdU 陽性細胞）や神経前駆細胞（BrdU/DCX 陽性細胞）の増加が見られた（図 2b～d）。また、3 週間の慢性投与後にも分裂細胞や神経前駆細胞の増加を認めた（図 2b～d）。5HT3R KO では、増加は見られなかった（図 2b～d）。一方、Flx は、WT において、3 週間の慢性投与により分裂細胞や神経前駆細胞の増加が見られた（図 2b～d）。これは、SSRI による海馬神経新生の増加には、数週間の慢性投与を要するという報告と一致する。また、5HT3R KO においても、3 週間の Flx 投与により同程度の分裂細胞や神経前駆細胞の増加が見られた（図 2b～d）。WT に Flx と SR57227A を併用投与すると、Flx 単独投与と比べ、より多くの分裂細胞や神経前駆細胞の増加が見られた（図 2b～d）。以上の結果から、5HT3 受容体は Flx による海馬神経新生の増加に関与していないこと、5HT3 受容体アゴニストは Flx と異なるメカニズムで海馬神経新生の増加をもたらすことが示唆された。

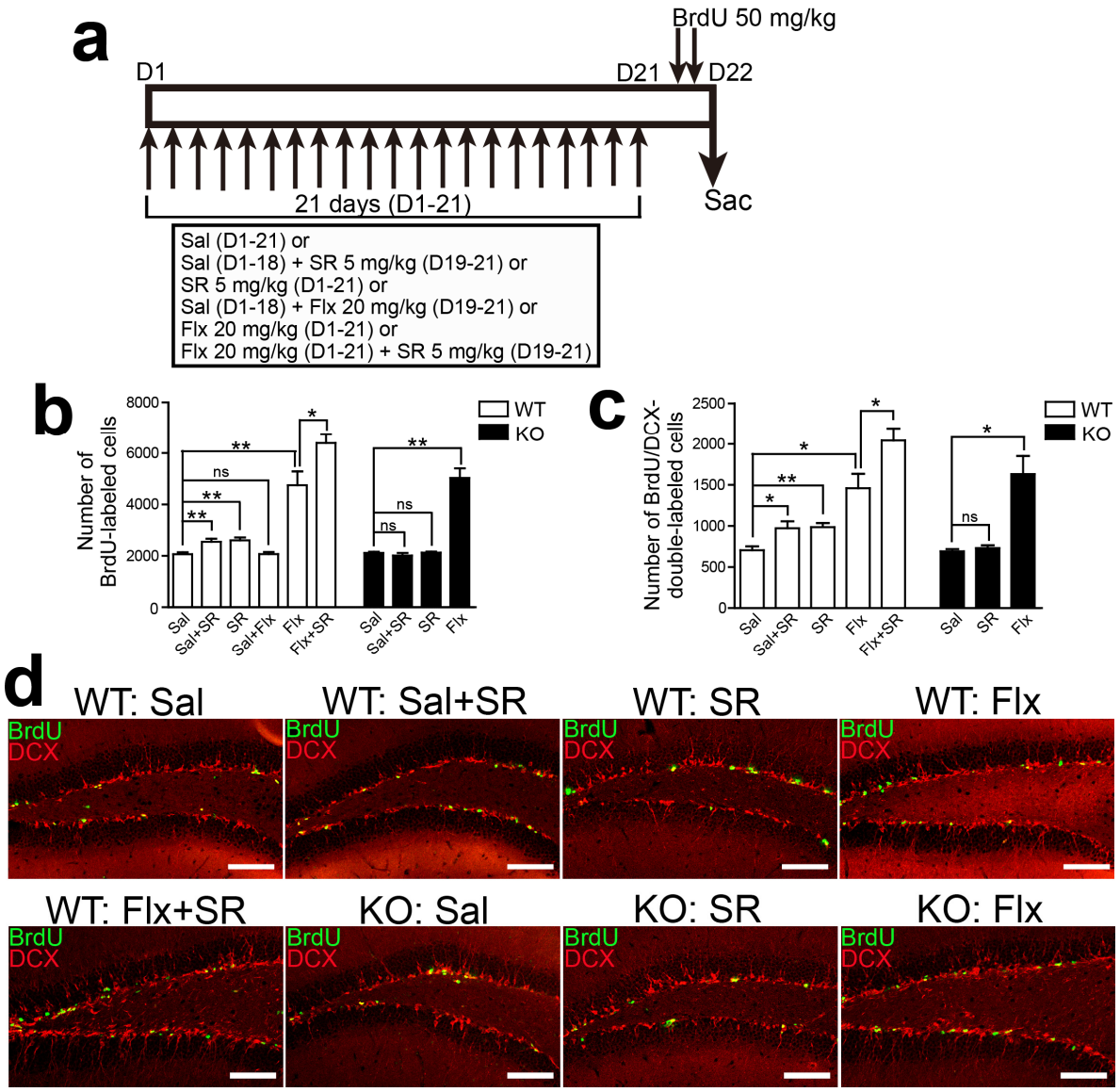


図 2. 5HT3 受容体アゴニストは Fluoxetine と異なるメカニズムで海馬神経新生増加をもたらす

a）実験のタイムコース。b～d）WT では SR57227A 投与により、海馬歯状回における分裂細胞（BrdU 陽性細胞：b）や神経前駆細胞（BrdU/DCX 陽性細胞: c，d）の増加が見られたが、5HT3R KO では増加は見られなかった。Flx は、WT において、3 週間の慢性投与により分裂細胞や神経前駆細胞の増加が見られた。5HT3R KO においても、Flx 投与で同程度の分裂細胞や神経前駆細胞の増加が見られた。WT に Flx と SR57227A を併用投与すると、Flx 単独投与と比べ、より多くの分裂細胞や神経前駆細胞の増加が見られた。Scale bars, 100 μm。*p < 0.05; **p < 0.01; ns, not significant（two-tailed t-test）。

3. 海馬における 5HT3 受容体発現細胞の形態学的解析

5HT3R-GFP トランスジェニックマウス（5HT3 受容体プロモーター制御下に GFP を発現する遺伝子改変マウス）の海馬の形態学的解析により、5HT3 受容体は海馬歯状回の顆粒細胞下帯（subgranular zone）に多く発現しており、神経細胞特異的であることを見出した（図 3）。

IGF1（insulin-like growth factor 1）は、神経栄養因子の 1 つで、海馬神経新生の促進作用や、抗うつ作用があることが知られている。そこで、海馬歯状回における 5HT3 受容体と IGF1 の関連について形態学的に検討した。*In situ* hybridization 法により、海馬歯状回では、ほとんどの IGF1 産生細胞が 5HT3 受容体を発現していることが明らかとなった。さらに、5HT3R-GFP トランスジェニックマウスの海馬の免疫組織学的解析により、5HT3 受容体と IGF1 は同一神経細胞に発現していることを明らかにした（図 3）。

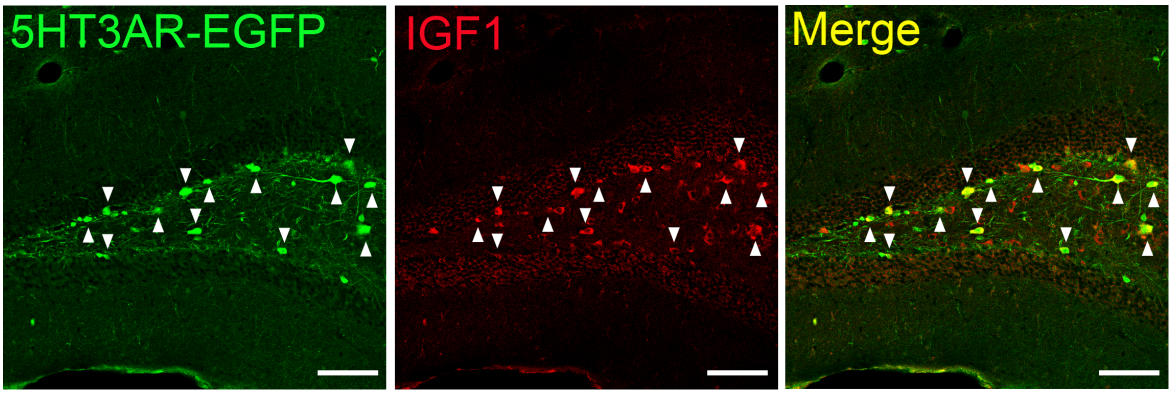


図 3. 海馬歯状回において、5HT3 受容体と IGF1 は同一神経細胞に発現している

5HT3R-GFP トランスジェニックマウスの海馬の免疫組織学的解析により、海馬歯状回において、5HT3 受容体は顆粒細胞下帯（subgranular zone）に多く発現していること、さらに、5HT3 受容体と IGF は同一神経細胞に発現していることを明らかにした。Scale bars, 100 μm。

4. 5HT3 受容体アゴニストが海馬の細胞外液中 IGF1 濃度に与える影響の解析

海馬歯状回における 5HT3 受容体と IGF1 の関連をさらに詳しく調べるために、*in vivo* マイクロダイアリシス法を用いて、海馬における IGF1 分泌量を解析した。定常状態において WT と 5HT3R KO では、海馬の細胞外液中および血清 IGF1 濃度に差は見られなかった。WT に SR57227A を投与すると、海馬の細胞外液中 IGF1 濃度が増加したが、血清 IGF1 濃度は変化しなかった（図 4a, b）。また、5HT3R KO では、SR57227A を投与しても、海馬 IGF1 濃度に変化はなかった（図 4c）。一方、WT に Flx を投与しても海馬の細胞外液中 IGF1 濃度に変化はなかった（図 4d）。以上の結果から、5HT3 受容体アゴニストは、海馬の IGF1 分泌を促進することが示唆された。

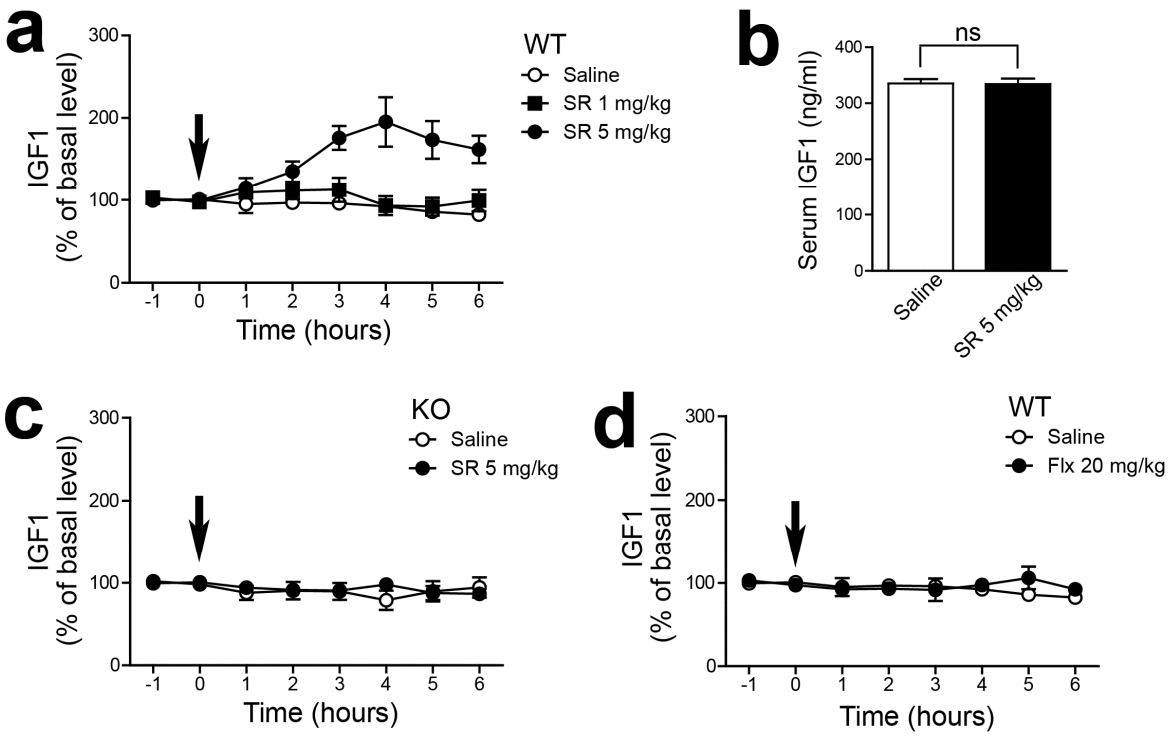


図 4. 5HT3 受容体アゴニストは海馬の IGF1 分泌を促進する

a, b）*in vivo* マイクロダイアリシス法を用いて、海馬における IGF1 分泌量を測定した。WT に SR57227A を投与すると、海馬の細胞外液中 IGF1 濃度が増加したが (a)、血清 IGF1 濃度は変化しなかった (b)。c) 5HT3R KO に SR57227A を投与しても、海馬 IGF1 濃度に変化はなかった。d）WT に Flx を投与しても海馬の細胞外液中 IGF1 濃度に変化はなかった。ns, not significant（two-tailed t-test）。

5. 5HT3 受容体アゴニストによる海馬の IGF1 分泌と神経新生との関連の形態学的解析

5HT3 受容体を介する海馬の IGF1 分泌と海馬神経新生の関連について形態学的に検討を行った（図 5a）。WT に SR57227A を投与すると、海馬歯状回における分裂細胞（BrdU 陽性細胞）や神経前駆細胞（BrdU/DCX 陽性細胞）が増加するが、この増加は、IGF1 受容体アンタゴニスト（AG1024）の海馬内投与により阻害された（図 5b, c）。一方、Flx の投与や AG1024 の海馬内投与では、分裂細胞や神経前駆細胞の数に変化は見られなかった（図 5b, c）。以上の結果から、5HT3 受容体アゴニストによる海馬神経新生の増加は、海馬で分泌された IGF1 を介するシグナル経路によって起こることが示唆された。

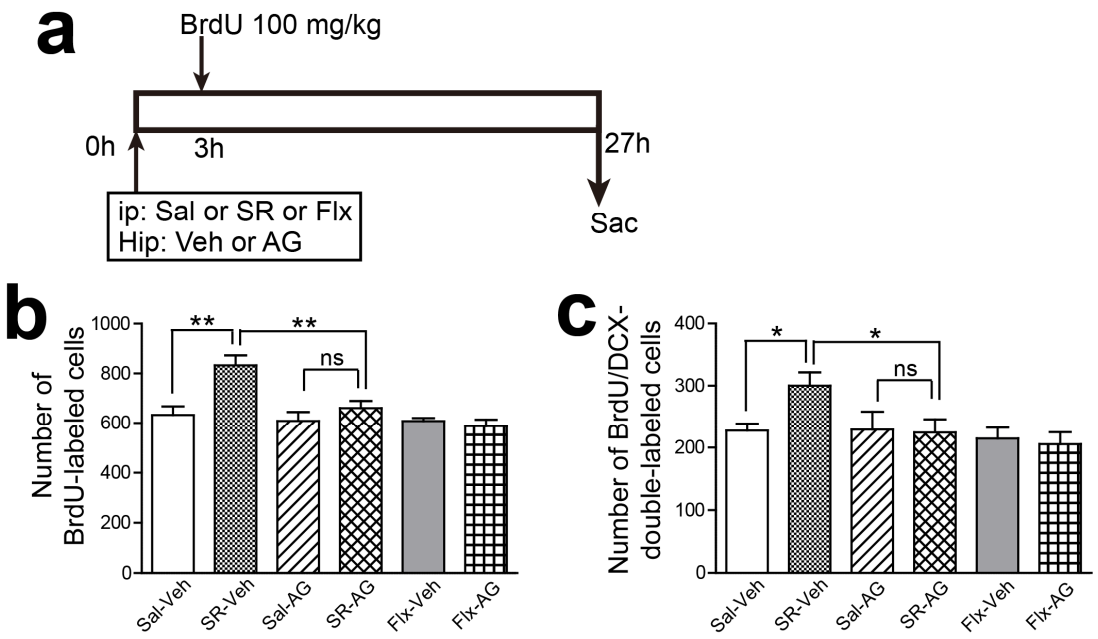


図 5. 5HT3 受容体アゴニストによる海馬神経新生の増加は、IGF1 を介するシグナル経路による

a）実験のタイムコース。b, c）WT に SR57227A を投与すると、海馬歯状回における分裂細胞（BrdU 陽性細胞: b）や神経前駆細胞（BrdU/DCX 陽性細胞: c）が増加するが、この増加は、IGF1 受容体アンタゴニスト（AG1024）の海馬内投与により阻害された。Flx の投与や AG1024 の海馬内投与では、分裂細胞や神経前駆細胞の数に変化は見られなかった。*p < 0.05; **p < 0.01; ns, not significant（two-tailed t-test）。

考　察

近年我々は、運動による抗うつ効果に 5HT3 受容体が必須の働きをしていることを明らかにした［1, 2］。そして本研究により、5HT3 受容体アゴニストを投与すると、海馬の IGF1 分泌が促進され、IGF1 シグナル経路を介して海馬神経新生が増え、既存の抗うつ薬 SSRI と異なる機序で抗うつ効果が得られることを見出し、うつ病の新たな治療メカニズムを明らかにした［3, 4］。

本研究成果は、運動による抗うつ効果の機序に基づいた、5HT3 受容体を標的とするうつ病の新たな治療薬の開発に繋がると考えられ、既存の抗うつ薬抵抗性の難治性うつ病に対する治療への貢献が期待できる。

文　献

1） Kondo M, Nakamura Y, Ishida Y, Shimada S. The 5-HT3 receptor is essential for exercise-induced hippocampal neurogenesis and antidepressant effects. Mol Psychiatry. 2015 Nov;20(11):1428-37. PMID: 25403840, doi: 10.1038/mp.2014.153.

2） Kondo M. Molecular mechanisms of experience-dependent structural and functional plasticity in the brain. Anat Sci Int. 2017 Jan;92(1):1-17. PMID: 27484433

3） Koyama Y, Kondo M, Shimada S. Building a 5-HT3A receptor expression map in the mouse brain. Sci Rep. 2017 Mar 9;7:42884. PMID: 28276429, doi: 10.1038/srep42884.

4） Kondo M, Koyama Y, Nakamura Y, Shimada S. A novel 5HT3 receptor-IGF1 mechanism distinct from SSRI-induced antidepressant effects. Mol Psychiatry. 2018 Apr;23(4):833-842. PMID: 28439104, doi: 10.1038/mp.2017.87.