## 特集 気分障害の生物学的理解の最前線

# 海馬神経細胞新生と気分障害治療

### 中川 伸

従来,成体の脳に存在する神経細胞はすべて胎生期または周産期に創られていると考えられていた。しかし,現在では側脳室周囲と海馬において活発に神経細胞が新生されることが明らかとなってきている。海馬においては下顆粒細胞層に神経幹細胞が認められ,そこから神経前駆細胞,未熟な神経細胞,成熟した神経細胞へと分裂,増殖,分化していく。創造された神経細胞は既存の神経細胞との接触を持ち,ニューロンネットワークを再構成し,新たな可塑性を生み出す。うつ病発症に大きく関与していると思われるストレスは,海馬における神経細胞新生を抑制する。さらに SSRI,NRI,MAO 阻害剤,電気けいれん療法など臨床的にうつ病の治療として確立された治療薬・治療法がすべて神経細胞新生を促進させることが報告され,海馬の神経細胞新生とうつ病治療の接点が注目されてきた。そしてこの機序として,抗うつ薬の慢性投与が成熟顆粒細胞における cAMP-CREB カスケードを介して,間接的に神経細胞新生を促進していることが明らかとなった。また,成体海馬歯状回から単離した神経前駆細胞(ADP)を用いた  $in\ vitro\ o$ 実験系により,抗うつ薬やセロトニンには ADP 増殖促進作用がなく,ノルアドレナリンやリチウムに直接効果があることを見出した。抗うつ作用の中のいくつかが成体海馬の神経細胞新生に関わっており,今後より詳細に検討することにより,新たな抗うつ薬開発につながることに期待が持たれている。

<索引用語:神経幹細胞,海馬,抗うつ薬,うつ病,気分安定薬>

### はじめに

治療薬・治療法を開発する手段として、その病態を解析する、既知の治療薬・治療法の作用機序を解析することが挙げられる。一般的には脳の病気としてとらえられている気分障害(特にうつ病)の病態部位として前頭薬、前部帯状回、扁桃体、側坐核、海馬などが注目されている。この中で海馬は比較的その神経細胞の構成や神経細胞間のつながりが単純であることや、MRIなどによる画像研究において体積の縮小が指摘される<sup>13)</sup>など生化学的な異常が見られることなどから、好んで取り上げられる。疾患の病態とその治療は必ずしも、相反した事象であるわけではない。なぜなら、治療の大部分が病気により傷害されている部分ではない、健全な部分を強化することにより、

傷害されている部分の機能を補足するものであるからである。しかしながら、脳はあまりに複雑な器官であるため、病態と治療を同じ部位から考えていくことが多いようである。本シンポジウムでは海馬、とりわけその中で見られる神経細胞新生に着目し、気分障害治療との関連を我々が得た研究結果とともに概説した。

### 1. 神経細胞新生とは?

従来、成体の脳に存在するニューロンはすべて 胎生期または周産期に創られ、その神経細胞ネットワークは固定されていると考えられていた。このため脳の複雑で莫大な量の働きを説明しうる「可塑性」のメカニズムは、神経細胞間の伝達効率(神経細胞の活動性、神経伝達物質の動的変化

など)が如何に変化しうるかということのみが研 究されてきた。しかし、約40年前に成体の脳に おいても細胞が分裂、増殖していることが指摘さ れ1,近年では側脳室外側周囲の側脳室下帯 (subventricular zone: SVZ) ならびに海馬の歯 状回における下顆粒細胞層 (subgranular zone: SGZ) の二つの部位において、神経細胞が活発 に新生されることが明らかになってきた11)。この 新しく生まれた細胞はニューロンやグリア細胞に 分化し, 遊走し, 成熟した既存の神経細胞にシナ プス結合することにより、機能的な働きをする17)。 この事実は, 従来考えられてきた「固定された神 経ネットワーク内での神経可塑性 | とは異なる, 「新たなネットワークが付加される可塑性 | を意 味し、 通常の脳の働きを神経細胞新生という現象 を加味して再考する必要が出てきた。

SGZ は海馬歯状回の顆粒細胞層と歯状回門の間の層をいい、ここに放射状グリア(radial glia)様の形態をしたゆっくりと分裂する神経幹細胞が存在する。この神経幹細胞から神経前駆細胞(progenitor cell)が非対称性に作られ、ニューロンやグリア細胞に分化し、成熟していく。このように発達したニューロンは顆粒細胞層の中を遊走し、神経軸索や樹状突起を伸張し、それまでに備わっていた神経ネットワークに入り込んでいく。現在ではこれらの発達過程は分子マーカーの発現パターンやその形態で6段階に分類されている12)(図1)。そして、この現象は齧歯類、鳥類、下等な哺乳類といった広範な動物種で見られるばかりではなく、ヒトにおいても確認されている80。

### 2. 抗うつ薬による海馬神経細胞新生の促進

Jacobs らはセロトニン,特に 5-HT1A 受容体を介して成体ラット海馬の神経細胞新生が促進されることを報告した<sup>10</sup>. Malberg らは,その所見を広げて抗うつ作用のあるセロトニン選択的再取り込み阻害薬 (fluoxetine),ノルアドレナリン選択的再取り込み阻害薬 (reboxetine),モノアミン酸化酵素阻害薬 (tranylcypromine),電気けいれん療法のすべてが新生される神経細胞の

増殖を促進させることを明らかにした<sup>14)</sup>。また,これら増加した細胞がニューロンになる率は変化しないため,結果的にはニューロンの数が増加していることを示した。これらの抗うつ薬の効果は急性投与では認められず,臨床効果と同じ慢性投与でのみ認められ、SVZでは見られず,SGZにのみ認められた。同様な結果はtianeptineを用いた実験<sup>5)</sup>など多数報告されている。一方,うつ病発症の最大のリスクファクターであるストレスは社会的ストレス,身体侵襲的ストレスなどその種類によらず神経細胞新生を抑制することが報告されている<sup>9,20)</sup>。

Phosphodiesterase 4 阻害薬である rolipram は cAMP が 5-AMP に加水分解するのを抑制し, 結果として細胞内 cAMP を増加させる。 筆者ら は cAMP-CREB のカスケードに注目し, rolipram を用いて神経細胞新生との関係を検討し た<sup>16)</sup>、rolipram の慢性投与は新生細胞数を増加 させたが、この効果は急性投与では認められなか った. そして, 急性投与ではなく, 慢性投与での み成熟した顆粒細胞 (SGZ にある細胞ではなく 顆粒細胞層にある細胞) における CREB のリン 酸化が認められた。このカスケードを検証するた めに CREB のリン酸化部位である Ser<sup>133</sup> に変異 を起こさせた dominant negative CREB を成体 の前脳領域に過剰発現させたトランスジェニック マウスを用いたところ, このマウスの海馬の新生 細胞数は減少していた。しかも、このトランスジ ェニックマウスに rolipram を慢性投与しても新 生細胞数の増加は見られなかった。 CREB はリ ン酸化されることによりホモダイマーを形成し, 遺伝子の上流にあるプロモーター領域の CRE 部 位に結合し、遺伝子発現を調節する。 すなわち, rolipramの慢性投与により, cAMP が増加し CREB を介して何らかの物質の遺伝子発現が調 整され、それが神経幹細胞/神経前駆細胞の増殖 を促しているといったカスケードが浮かび上がっ てきた、一方、これまでに抗うつ薬の慢性投与に より, 受容体の細胞内情報伝達系である cAMP 量の増加や, さらにその下流の転写因子である

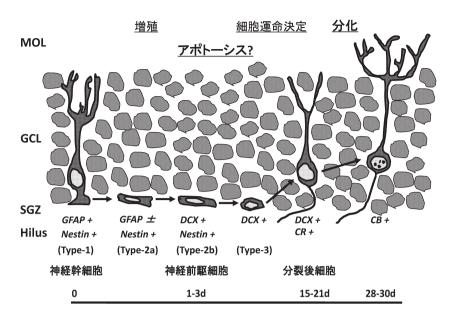


図1 成体海馬における新生神経細胞の分化段階

神経幹細胞から成熟したニューロン(グリア細胞は図に示されていない)への分化段階が示されている。神経幹細胞とされる Type-1 細胞は,増殖能が半永久的であり,GFAP,nestin ともに強発現している。一方,分裂能の高い神経前駆細胞には Type-2 a,b 細胞が相当すると考えられる。さらに Nestin の遺伝子発現が見られない Type-3 細胞,分裂能のない未熟なニューロンへと分化度が上がっていく。これらの段階の中で Type-3 細胞周辺においてアポトーシスが起こると考えられ,増殖により作られた新生細胞は大部分が淘汰されてしまう。図の最下部には各分化段階に至るまでのおおよその時間を表示してある。MOL:分子層,GCL:顆粒細胞層,SGZ:下顆粒細胞層,Hilus:歯状回門

cAMP response element binding protein (CREB) の活性化,また脳由来神経栄養因子 (brain-derived neurotrophic factor:BDNF) や血管内皮細胞増殖因子 (vascular endotherial cell growth factor:VEGF) などの 2 次的たんぱく質の発現誘導が惹起されることが報告されている $^{3,7}$ . つまり,抗うつ薬や直接的に増やされるセロトニン,ノルアドレナリンなどのモノアミンが,間接的に神経細胞新生を促進させるカスケードがこれらの実験結果から示されたのである(図 2).

このため、次の段階として、これらの直接作用を検討するため、成体ラット歯状回から神経幹・前駆細胞を単離することを試み、我々はこの培養系(<u>A</u>dult rat <u>D</u>entate gyrus derived neural Precursor cell:ADP)を確立することに成功し

た4). ADP の増殖は限定的であり、およそ 20 継 代すると死んでしまう。一方、レチノイン酸を付 加することにより、ニューロン、グリア細胞、神 経膠細胞に分化する多分化能があることが確認さ れた. 遺伝子発現パターンは nestin 陽性, GFAP 半陽性、SOX2 陽性であり、上記の結果 を踏まえると in vivo 系における Type 2a細胞 に相当すると考えられた (図1参照)。ADP の増 殖は糖質コルチコイド受容体のアゴニストである dexamethasone (DEX) により、抑制された<sup>4)</sup>。 一方, SSRI を含む数種類の抗うつ薬は増殖促進 作用を示さず、さらには DEX の抑制にも作用を 示さなかった。また、驚くことにセロトニンにも 増殖促進作用は見られなかった。 これらの結果か ら, SSRI は少なくとも, 間接的な経路(上記の cAMP-CREBカスケードなど)を介して神経細

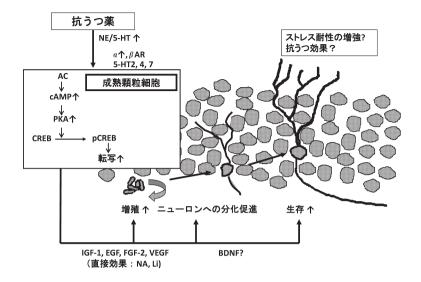


図2 抗うつ薬が神経細胞新生に関わる経路

抗うつ薬の慢性投与は、シナプス間隙におけるモノアミン量の増加のみならず、受容体を擁している成熟した顆粒細胞内のシグナルも大きく変化させる。セロトニンやノルアドレナリンはその受容体を介して cAMP の活性を上げることができる。そのことにより PKA 活性が上昇し、CREB をリン酸化させ、幾つもの物質の遺伝子発現調節を行う。この間 CREB 自身の遺伝子発現量も増加していることが知られている。成熟した顆粒細胞からの物質(FGF-2 など)が間接的に、神経細胞新生を促進していることが明らかとされている。一方、 $in\ vitro\ o$  実験系から NA や Li が直接的に作用して、神経前駆細胞を増殖させることが示された。

AC: adenylate cyclase, cAMP: cyclic adenosine monophosphate, PKA: protein kinase A, CREB: cAMP response element binding protein, IGF-1: insulin growth factor 1, EGF: epidermal growth factor, FGF-2: fibroblast growth factor 2, VEGF: vascular endothelial growth factor, BDNF: brain-derived neurotrophic factor

胞新生を促進していると考えられた(現在投稿中)。一方,ノルアドレナリンは直接的に ADP の増殖を促進し, $\beta$ 2 受容体を介するカスケードが想定され,細胞内シグナルについては検討中である。うつ病治療の増強療法として,炭酸リチウムが頻用される。このため,ADP におけるリチウム(Li)の効果も検討した。その結果,Li は直接的には ADP を増加させなかったが,DEX による増殖抑制を阻害した。さらに,そのメカニズムとして  $GSK3\beta$ - $\beta$ -catenin/TCF pathway が関与していることを明らかにしたり。以上の結果から,少なくともノルアドレナリンや Li に神経前駆細胞の増殖促進作用があることが明らかとな

っている (図2参照).

## 3. 神経細胞増殖促進と抗うつ効果との関係

学習性無力感(learned helplessness)は,うつ病のある側面を示しており,その実験パラダイムはうつ病のモデル動物を作成するのに頻用されている。このモデル動物において海馬の新生細胞数は減少し,抗うつ薬の慢性投与はそれを回復させた $^{15}$ 。さらに learned helplessness を示す行動が修正されたものでは,神経細胞数が回復され,行動が修正されなかったものは新生神経細胞数が減少したままであったことが報告された。一方,Santarelli らは,X線をSGZ に照射し,神経細

胞の増殖を阻害することにより novelty-suppressed feeding 試験や chronic unpredictable stress 試験における抗うつ薬の効果が消去されることを示し、海馬の神経細胞新生と抗うつ効果を行動学実験上で結びつけた<sup>18)</sup>。しかしながら、現在までSantarelli らと同様に新生される神経細胞の増殖を阻止する処置を施した動物においても、splash試験、open filed 試験、forced-swimming 試験などで抗うつ薬による抗うつ効果が認められたといった報告<sup>2,6,19)</sup>があるなど、「抗うつ効果」における海馬神経細胞新生の役割は未だ明確ではなく、より慎重な検討が必要であろう。

### 4. 最後に

近年,精神疾患の病態やその治療の研究はミクロレベルでは神経伝達物質やその下流にある細胞内シグナル伝達を中心に行われてきた。そして,それらの研究結果から,多くの治療薬が開発されてきている。しかし,一方ではこれら治療薬に反応しない難治例も数多く経験され,新たな治療仮説が待ち望まれていた。ニューロン新生は,既存の神経ネットワークに留まらない,新たな神経可塑性の分子基盤であり,いろいろな傷害を補完するポテンシャルを秘めている。この魅力的な現象を今後より慎重に検討していくことにより,新たな気分障害の治療手段が開発されることが期待されている。

#### 謝語

本稿を執筆するにあたり、研究、推敲していただいた 方々に厚く御礼申しあげます。特に実際に研究を動かして いただいた朴秀賢、戸田裕之、高村直樹、宋寧各先生、加 藤亜紀子実験助手に深く感謝致します。

#### 文 献

- 1) Altman, J., Das, GD.: Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats. J Comp Neurol, 124; 319-335, 1965
- 2) Bessa, J.M., Ferreira, D., Melo, I., et al.: The mood-improving actions of antidepressants do not depend on neurogenesis but are associated with neuronal

remodeling. Mol Psychiatry, 14; 764-773, 2008

- 3) Berton, O., Nestler, E. J.: New approach to antidepressant discovery. Nat Rev Neurosci, 7; 137-151, 2007
- 4) Boku, S., Nakagawa, S., Masuda, T., et al.: Glucocorticoids and lithium reciprocally regulate the proliferation of adult dentate gyrus-derived neural precursor cells through GSK-3β and β-catenin/TCF pathway. Neuropsychopharmacology, 34; 805-815, 2009
- 5) Czeh, B., Michaelis, T., Watanabe, T., et al.: Stress-induced changes in cerebral metabolites, hippocampal volume, and cell proliferation are prevented by antidepressant treatment with tianeptine. PNAS, 98; 12796–12801, 2001
- 6) David, D.J, Samuels, B.A., Rainer, Q., et al.: Neurogenesis-dependent and -independent effects of fluoxetine in an animal model of anxiety/depression. Neuron, 62: 479-493, 2009
- 7) Duman, R.S., Malberg, J., Nakagawa, S., et al.: Neuronal plasticity and survival in mood disorders. Biol Psychiatry, 48: 732-739, 2000
- 8) Eriksson, P.S., Perfilieva, E., Bjork-Eriksson, T., et al.: Neurogenesis in the adult human hippocampus. Nat Med, 4; 1313-1317, 1998
- 9) Gould, E., Tanapat, P., McEwen, B.S., et al.: Proliferation of granule cell precursors in the dentate gyrus of adult monkey is diminished by stress. PNAS, 95; 3168-3171, 1998
- 10) Jacobs, B.L., Praag, H.V., Gage, F.H.: Adult brain neurogenesis and psychiatry: a novel theory of depression. Mol Psychiatry, 5; 262-269, 2000
- 11) Kempermann, G., Kuhn, H.G., Gage, F.H.: More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. Nature, 386; 493-495, 1997
- 12) Kempermann, G., Jessberger, S., Steiner, B., et al.: Milestones of neuronal development in the adult hippocampus. Trends Neurosci, 27; 447-452, 2004
- 13) Lorenzetti, V., Allen, B.N., Fornito, A., et al.: Structural brain abnormalities in major depressive disorder: A selective review of recent MRI studies. J Affective Disorder, 117; 1-17, 2009
- 14) Malberg, J.E., Eish, A.J., Nestler, E.J., et al.: Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult hippocampus. J Neurosci, 20; 9104-

9110, 2000

- 15) Malberg, J.E., Duman, R.S.: Cell proliferation in adult hippocampus is decreased by inescapable stress: Reversal by fluoxetine treatment. Neuropsychopharm, 28; 1562–1571, 2003
- 16) Nakagawa, S., Kim, J.E., Lee, R., et al.: Regulation of neurogenesis in adult mouse hippocampus by cAMP and CREB. J Neurosci, 22; 3673-3682, 2002
- 17) Praag, V.H., Schinder, A.F., Christi, B.R., et al.: Functional neurogenesis in the adult hippocampus. Nature, 415; 1030-1034, 2002
  - 18) Santarelli, L., Saxe, M., Gross, C., et al.: Re-

- quirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants. Science, 301; 805–809, 2003
- 19) Surget, A., Saxe, M., Leman, S., et al.: Drugdependent requirement of hippocampal neurogenesis in model of depression and of antidepressant reversal. Biol Psychiatry, 64; 293–301, 2008
- 20) Tanapat, P., Hastings, N.B., Rydel, T.A., et al.: Exposure to fox odor inhibits cell proliferation in the hippocampus of adult rats via an adrenal hormone-dependent mechanism. J Comp Neurol, 437; 496–504, 2001

### Involvement of Neurogenesis in the Action of Psychotropic Drugs

#### Shin Nakagawa

Department of Psychiatry, Hokkaido University Graduate School of Medicine

Recent studies clearly showed that neurogenesis continued to occur in the certain brain regions including hippocampus. The stem or progenitor cells are divided equally (proliferation) or unequally, survive apoptosis and differentiate to mature neuron and glia. Such newborn cells integrate into existing neuronal networks, make synaptic contacts and finally change the plasticity. The proliferation is decreased by stress, but chronic treatment of antidepressants increases it. We have shown the involvement of cAMP-CREB cascade in mature granule cells of dentate gyrus (DG) around stem/progenitor cells in the drug action. And to see the direct effect of some psychotropic drugs, we established the culture system of adult rat DG-derived neural precursor cell (ADP). Several antidepressants did not affect the proliferation. Moreover 5-HT did not promote the proliferation of ADPs. On the other hand, noradrenaline and lithium directly increase the proliferation. Further investigation is needed to develop new antidepressant drugs.

<Author's abstract>

< Key words: neuronal stem cell, hippocampus, antidepressant, depression, stabilizer >