氏　　名	森　田　登喜子
国籍・本籍	愛知県
学位の種別	博士（薬学）
学位の番号	甲第241号
学位授与の日付	平成26年 9 月15日
学位授与の要件	名城大学学位規程第 3 条第 3 項該当
学位論文題目	大うつ病性障害における神経ステロイドの動態変化及びミクログリア活性化機構に関する研究
論文審査委員	主　査　湯　川　和　典
	副　査　金　田　典　雄
	副　査　能　勢　充　彦

論文内容の要旨

現在、さまざまな社会的要因からうつ病に対する社会の関心が高まっている。日本人のうつ病罹患率は、20 年来増加の傾向をたどっている。また、世界的にうつ病は女性、若年者に多いとされているが、日本では就労世代の中高年層の発症頻度が高く、社会的損失は甚大である。さらに、現在の高齢社会における高齢期のうつ病の増大も深刻な問題である。そのため、うつ病の病因・治療の研究は重要な課題である。うつ病の病因・発症メカニズムは未だ特定されていない。従来の心理学的仮説、モノアミン仮説、海馬の神経損傷仮説の他、最近では神経変性疾患の成因とみなされる神経炎症がうつ病に関与していると指摘され、炎症性因子を産生する脳内ミクログリアの作用機序が注目されている。

本研究では、はじめにうつ病の根底にある社会心理的ストレスが視床下部―下垂体―副腎系の亢進により唾液や血漿中のデヒドロエピアンドロステロンサルフェート（Dehydroepiandrosterone sulphate, DHEA-S）を増加させることに注目した。DHEA-S はまた脳内で神経細胞から新たに合成され神経伝達物質としてうつ病に関与する神経ステロイドでもある。DHEA-S の投与が抗うつ薬のスクリーニングに用いる強制水泳試験でマウスの無動状態を緩解し、さらに治療抵抗性ストレス疾患モデルである恐怖条件づけストレス反応においてマウスのすくみ反応を緩解することから、DHEA-S の抗うつ作用、あるいはうつ病の病態との関連性を有する可能性が考えられる。したがって、本研究では大うつ病性障害患者

の治療前後の血漿サンプルを用い、病態と血漿 DHEA-S 濃度の関連性について検討した。大うつ病性障害患者 24 名（男性 15 名、女性 9 名）の血漿 DHEA-S 濃度を測定し、性、年齢を適合させた同数の健常対照者の血漿 DHEA-S 濃度と比較したところ、有意に高い値を示した。しかし、抗うつ薬治療によって患者全体の血漿 DHEA-S 濃度は有意に低下した。さらに治療後の病態と DHEA-S 濃度の変化について検討したところ、寛解した患者 18 名（男性 11 名、女性 7 名）の血漿 DHEA-S 濃度は治療前と比較して有意に低下したが、寛解しなかった患者 6 名（男性 4 名、女性 2 名）の血漿 DHEA-S 濃度は治療前と比較して有意な低下を示さなかった。したがって、患者の治療後の寛解・非寛解が血漿 DHEA-S 濃度と関連していることが示唆される。また、性による変化に着目すると、健常対照者、治療前後の患者のいずれにおいても、男性の血漿 DHEA-S 濃度は女性と比較して有意に高い値を示した。一方、抗うつ薬治療を受けた女性患者の血漿 DHEA-S 濃度は治療前より有意に低下したが、男性患者の血漿 DHEA-S 濃度は治療前より有意な低下を示さなかった。しかし、寛解した男性患者の血漿 DHEA-S 濃度は有意に低下した。したがって、性にかかわらず寛解が DHEA-S の有意な低下と関連していることが示唆される。

大うつ病性障害の重症度は構造化面接ハミルトンうつ病評価尺度 17 項目（17-item Structured Interview Guide for the Hamilton Depression Rating Scale, SIGH-D17）によって診断した。抗うつ薬治療を受けた患者全体の SIGH-D17 スコアは治療前に比較し有意に低下した。さらに SIGH-D17 のうち第 1 項目抑うつ気分と第 12 項目精神不安のスコアの和を示す Absence of Depressive and Anxious Mood score（ADAM score）を検討した。治療後 ADAM スコアゼロになった患者 12 名（男性 7 名、女性 5 名）の血漿 DHEA-S 濃度は、治療前と比較して有意に低下したが、ゼロにならなかった患者の血漿 DHEA-S 濃度は、治療前と比較して有意な低下を示さなかった。また、患者全体の両スコアの治療前から治療後の減少度と治療前後の DHEA-S 濃度の変化率（%）との相関を検討した。その結果、SIGH-D17 スコアの減少度と治療前後の DHEA-S 濃度の変化率との間に有意な相関は認められなかったが、ADAM スコアの変化と患者の治療前後の DHEA-S 濃度の変化率との間には有意な相関が認められた。寛解による血漿 DHEA-S 濃度の有意な低下および ADAM スコアと血漿 DHEA-S 濃度との相関は、血漿 DHEA-S 濃度がうつ病のバイオマーカーとなる可能性を示唆している。

さらに、本研究では、うつ病と関連する社会心理的ストレスによって活性化されるミクログリアの炎症性因子産生と産生機構に注目した。すでに、ミクログリアの活性化によって産生されるインターロイキン 1（IL-1）や一酸化窒素（NO）等の炎症性因子がうつ病に関与することが報告されている。当研究室ではこれまでに、マウスのミクログリア由来の初代細胞においてセマフォリン 3A（Semaphorin 3A, Sema3A）が PlexinA-1 受容体と結合し、微生物由来のリポ多糖（LPS）誘導性の Toll 様受容体 4（TLR4）介在細胞内シグナルとクロストークして、NO の産生を増大させること明らかにしている。本研究では、マウス由来のミクログリア細胞株である BV-2 細胞を用いて LPS と Sema3A の同時刺激による炎症性因子産生の増大および細胞内シグナル伝達経路についてさらに詳細な解析を行った。

BV-2 細胞では Sema3A の受容体 Plexin-A1 の発現を確認した。また、BV-2 細胞における LPS と Sema3A による同時刺激は、誘導型一酸化窒素合成酵素（iNOS）、インターロイキン−1β（IL-1 β）、腫瘍壊死因子−α（TNF- α）、NOの産生を増大させた。しかし、Plexin-A1 ノックダウン BV-2 細胞では、コントロールsiRNA処置BV-2細胞と比較してLPSとSema3Aの同時刺激によるiNOS、IL-1β、TNF- α、NO の産生が有意に減少した。この結果は、Plexin-A1 が炎症性因子の発現増大に必要なことを示唆している。さらに、BV-2 細胞を LPS で刺激すると Sema3A mRNA 量が有意に増加し、Sema3A タンパクの産生と分泌を引き起こした。このことは、BV-2 細胞の LPS-TLR4 シグナルの活性化によって引き起こされた Sema3A の産生と分泌が Plexin-A1 を信号伝達ループ中で作動させ、炎症性因子の産生を増大させる可能性を示唆する。また、Plexin-A1 ノックダウン BV-2 細胞とコントロール siRNA 処置 BV-2 細胞に対し、LPS 添加あるいは無添加の場合の Sema3A による刺激の影響を比較した結果、コントロール細胞に LPS を添加した場合に Sema3A による刺激が NO 産生を増大した。Plexin-A1 ノックダウン BV-2 細胞では LPS 添加、Sema3A で刺激による NO 産生の増大は認められなかった。したがって、BV-2 細胞において炎症性因子の産生に最適な細胞内シグナルの形成には Sema3A-Plexin-A1 シグナルと LPS-TLR4 シグナルの両方が必要なことが示唆される。

ミクログリア由来初代細胞において、Sema4D-Plexin-B1 シグナルが細胞外シグナル調節キナーゼ（ERK1/2）の活性化を経て NO の産生を増大させることが報告されている。本研究では、BV-2 細胞において、Sema3A-Plexin-A1 シグナルと LPS-TLR4 シグナル間のクロストークが核内因子 κB（NF-κB）と ERK1/2 の活性化を介していることの確認実験を行った。LPS、Sema3A、ERK1/2 阻害剤を添加した BV-2 細胞は、LPS と Sema3A のみを添加した BV-2 細胞と比べて NO の産生が有意に減少した。この結果から、ミクログリアの LPS 応答において Sema3A-Plexin-A1 シグナルが ERK1/2 活性化を介して炎症性因子 NO の産生増大に関与することが示唆される。したがって、LPS-TLR4 シグナルと Sema3A-Plexin-A1 シグナルの両者が炎症性因子の最適な産生と細胞内シグナルの形成に必要であり、LPS によって引き起こされる脳症やうつ病等の神経炎症関連精神障害に対し、新規治療法の有望な開発ターゲットとなり得ることを示唆している。

現在、大うつ病性障害に関する研究は、関連遺伝子や死後脳における器質変化、前頭葉の血流変化など多方面から進められている。しかし、明確な病因との関連は未だ確定されていない。遺伝子についても、エピジェネティックな変化を考慮することが不可欠であり、直接的な結びつけは未だ困難だと考えられる。本研究の成果は、大うつ病性障害を巡る多くの事象の一端を明らかにしたものであり、障害の治療に適する創薬の開発につながることが期待される。

論文審査の結果の要旨

大うつ病性障害（うつ病）の病態において、社会的ストレス等の慢性ストレスに起因する視床下部-下垂体-副腎系（HPA 軸）の亢進により過剰に分泌されたグルココーチコイドと、慢性ストレスによって活性化したミクログリアが産生する炎症関連因子が相互作用して前頭葉の神経機能を障害することが示唆されている。デヒドロエピアンドロステロンサルフェ―ト（DHEA-S）は、HPA 軸の調節下に副腎皮質より分泌される男性ホルモンの中間代謝産物であり、うつ病患者の唾液及び血漿中では高い傾向を示す。また DHEA-S は、脳内の細胞によって合成される神経ステロイドとしても機能し、GABA 受容体の抑制とシグマ 1 受容体の活性化を介して抗うつ作用を発揮する。本研究は、うつ病の病態における神経ステロイドの動態変化及びミクログリア活性化機構の解明を目的として、うつ病患者の病態における血漿 DHEA-S 濃度の変化及びうつ病の病態に関わるミクログリア活性化の細胞内シグナル伝達機構について検討を行った論文である。

第 1 章では、大うつ病性障害患者の血漿 DHEA-S 濃度は健常者より有意に高値であったが、うつ病評価尺度により寛解状態と判定された抗うつ薬治療患者の血漿 DHEA-S 濃度は有意な低下を示し、うつ病の寛解状態の指標として血漿 DHEA-S 濃度の有効性が示唆された。

第 2 章では、ミクログリア細胞株において、セマフォリンの Sema3A が受容体の Plexin-A1 と細胞外シグナル制御キナーゼ(ERK)の活性化を介してリポ多糖誘発性の炎症関連因子産生を増強することが判明し、うつ病等の精神疾患の治療法開発に繋がる基礎的知見が明らかになった。

以上のことより、学位論文としての条件を備えていると評価できる。従って、学位を授与することを妥当なものと判断する。