

アストロサイト機能異常とうつ病分子病態の因果関係解明に関する研究

小泉修一

山梨大学医学部 薬理学講座

【研究の背景】

我々はこれまでに、グリア細胞と各種機能との機能連関に関する研究を行って来た。グリア細胞が所謂グリア伝達物質と呼ばれる化学伝達物質を放出し、脳の機能を積極的かつダイナミックに制御していること^{1,2)}、シナプスの刈り込み・新生により、シナプス回路を繋ぎ替えてしまうこと^{3,4,5)}を報告してきた。また、グリア細胞は、各種化学物質に曝露された際に先ず最初にその性質を変化させる。しかし、脳に到達した医薬品、特に向精神薬が、グリア細胞に作用していることが明らかにもかかわらず、その作用様式、応答様式、さらに治療効果との関連性に関しては殆ど知られていない。

うつ病の主たる病因は、モノアミン神経系の機能不全によると長い間信じられてきた。実際、モノアミン神経、ノルアドレナリン(NAd)及びセロトニン(5HT)の再取り込み阻害薬は、抗うつ作用を呈し、5HT 選択的再取り込み阻害薬(SSRI)は治療の第一選択薬としてしばしば用いられる。一定の治療効果が認められる一方で、これらモノアミン神経系に対する治療薬が全く奏効しない例が多いこと、治療効果発現までに2週間程度のタイムラグがあること、などうつ病の分子病態には、単にモノアミン神経機能不全では説明出来ない分子メカニズムが潜んでいる可能性が高い。

死後脳のトランスクリプトーム解析により、うつ病患者で多くのグリア関連分子の異常が認められるが、これらがうつ病の分子病態に起因するのか、服用していた抗うつ薬の作用による変化であるのか不明である。

Cao ら⁶⁾は、モデルマウスを用いた網羅的な機能分子変化の解析により、うつ病モデルマウスでは細胞外 ATP 濃度が減少していること、さらに細胞外 ATP を増加させることによりうつ症状が改善することを報告し、うつ病の分子病態に細胞外 ATP の減少が中心的な役割を果たしていることを明らかとした。このうつ病の ATP 仮説であるが、その ATP ソースとしてアストロサイトを想定していた。我々もアストロサイトと神経細胞の機能連関では、細胞外 ATP がグリア伝達物質として中心的な役割を果たしていることを示してきた^{1,2)}。そこで、抗うつ薬はアストロサイトに作用して、細胞外 ATP 放出を引き起こすことにより、抗うつ作用を呈する、との仮説を提唱し、その検証を行うことを計画した。

【目 的】

うつ病とグリア細胞の機能異常との「相関関係」に関する報告はあるが、両者の「因果関係」は不明である。選択的セロトニン再取り込み阻害薬(SSRI)である fluoxetine (FLX) のグリア細胞に対する作用及びその抗うつ作用との関連性を精査することにより、グリア細胞(特にアストロサイト)のグリア伝達とうつ病分子病態の因果関係を明らかとする。本研究は、アストロサイトを標的とした新しいうつ病治療戦略の基礎データを提示することを目的とするものである。特に FLX によるアストロサイト ATP 放出能亢進を切り口とし、関連分子の遺伝子改変動物を用い、グリア機能とうつ病分子病態の因果関係を解明する。

【方 法】

研究には B6 系雄性マウスを用いた。抗うつ作用の評価は、tail-suspension 試験により評価した。アストロサイト特異的な分子 X 欠損(astro-X-KO)及び X 過剰発現(astro-X-OE)マウスは、tetO-X マウスと、それぞれ Mlc-tTA 及び Mlc-tTS を掛け合わせることで作製した。ATP 放出量は、ルシフェリン-ルシフェラーゼ法により評価した。

【結 果】

まず初代培養アストロサイトを用い、FLX が細胞外 ATP (ATP_o) を変化させるか否かを解析した。FLX は濃度依存的に ATP_o を増加させ、これは Ca²⁺ 依存的であった。ATP_o 亢進の分子メカニズムの解析を行ったところ、放出の分子メカニズムを明らかにしたところ、FLX は開口放出により ATP_o を亢進させていることが明らかとなった。これは、ATP 開口放出に関するアストロサイト分子 X を見出した。アストロサイト分子 X を抑制すると、FLX による ATP 放出はほぼ消失した。

In vivo マイクロダイアリシス法により、FLX がアストロサイトの ATP_o を増加させるか否かの検討を行った。FLX は投与二週間以降から ATP_o を増加させることが明らかとなり、これは分子 X 発現の時間経過と一致していた。X ノックアウト動物を作製したところ FLX による ATP 放出は消失した。

ATP_o と FLX の治療効果との相関関係を明らかにするため、astro-X-KO を作製した。FLX による抗うつ効果は、Tail-suspension テストを用いた無動時間測定により評価した。野生型マウスでは、FLX 慢性投与により、マウスの無動時間は顕著に短縮された (抗うつ作用)。しかし、astro-X-KO では、FLX による無動時間の短縮は惹起されなかった。さらに、astro-X-OE マウスを作製し、FLX による抗うつ作用を解析した。astro-X-OE マウスは、より低い FLX 投与量にて抗うつ作用が発現されることが明らかとなった。アストロサイトの ATP_o 放出亢進が、何故抗うつ作用と関連するのかに関する検討は、現在進行中である。種々の栄養因子の産生・放出が関係している可能性を見出したが、詳細は今後の課題である。

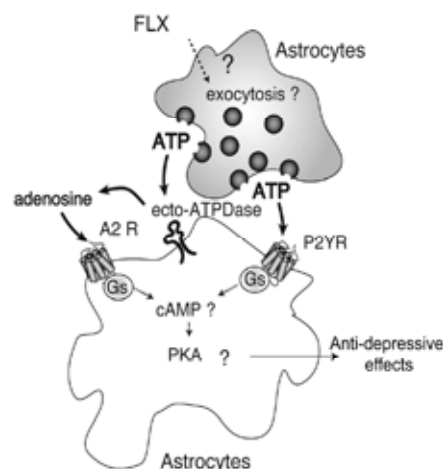


図 FLX のアストロサイトに対する作用

FLX により、アストロサイトは ATP_o を亢進させる。ATP_o は、P2 及び A2 受容体を介した PKA 等依存的栄養因子放出によりアストロサイト性の抗うつ作用を呈する。

【考 察】

SSRI 型抗うつ薬 FLX の薬理作用にアストロサイトからの ATP 放出亢進作用があること、この ATP 放出作用と抗うつ作用発現との間に明らかな因果関係があることが明らかとなった。また、今回認められた FLX の作用は、少なくともいくつかの既存の抗うつ薬 (三環系抗うつ薬、SNRI 型抗うつ薬) に共通した知見であった。ATP の放出メカニズムに、開口放出が関係していることも見出した。FLX により亢進した ATP_o が何故抗うつ作用を呈するのか、の分子メカニズムの解明は今後の大きな課題である。しかし、複数の神経栄養因子の亢進と関係していることを見出しており、実行因子としてのこれら分子とアストロサイト性抗うつメカニズムの関連性の解明が待たれる。以上、本研究により抗うつ薬の作用標的として、アストロサイトが必須の役割を有することが明らかとなった。これは、うつ病分子病態にアストロサイトの機能変調、つまりアストロサイトの ATP 放出不全が大きく関係していることを強く示唆する。うつ病治療の新しい治療戦略として、グリア細胞 (アストロサイト) に介入する重要性を強く示唆する結果である。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

既存の抗うつ薬の作用標的として、アストロサイトが重要であること、またアストロサイトの分子 X が重要であることが明らかとなった。既存の抗うつ薬に抵抗性を示す難治性のうつ病患者の治療戦略として、これらの制御が有用である可能性が示唆された。また、アストロサイト X を選択的に制御する医薬品の開発により、副作用の少ないより効果的な抗うつ薬開発が可能になる可能性も示唆することが出来た。今後は、うつ病患者の髄液 ATP 量等の測定を介して、ATP とうつ病との関連性、さらにアストロサイト X と抗うつ作用との関連性について、臨床研究との連携を図っていきたい。

(現在論文投稿中のため、アストロサイト性の分子については、X の記載とした)。

【参考・引用文献】

1. Koizumi, S. et al. Dynamic inhibition of excitatory synaptic transmission by astrocyte-derived ATP in hippocampal cultures. *Proc Natl Acad Sci U S A* **100**, 11023–11028 (2003).
2. Koizumi, S., Ohsawa, K., Inoue, K. & Kohsaka, S. Purinergic receptors in microglia: functional modal shifts of microglia mediated by P2 and P1 receptors. *Glia* **61**, 47–54 (2013).
3. Kim, S.K., et al. Cortical astrocytes rewire somatosensory cortical circuits for peripheral neuropathic pain. *J Clin Invest* **126**, 1983–1997 (2016).
4. Kim, S.K. et al. Astrocyte-mediated synapse remodeling in the pathological brain. *Glia* (2017).
5. Morizawa, Y.M., et al. Reactive astrocytes function as phagocytes after brain ischemia via ABCA1-mediated pathway. *Nat Commun* **8**, 28 (2017).
6. Cao, X., et al. Astrocyte-derived ATP modulates depressive-like behaviors. *Nat Med* **19**, 773–777 (2013).