

海馬アストロサイトにおける SGK1 に着目した電気けいれん療法の作用機序解明

朴 秀賢

新潟大学大学院医歯学総合研究科 精神医学分野

【研究の背景】

うつ病患者の死後脳でアストロサイトが減少し¹⁾、ラットでのアストロサイトの選択的減少はうつ病様症状を引き起こし²⁾、抗うつ薬の効果が減弱する³⁾ことなどから、アストロサイトはうつ病の病態で重要な役割を担っていることが示唆されている。また、うつ病の有力な病態仮説として注目されているのが、グルココルチコイドにより海馬神経細胞新生が低下し、治療により回復するという、神経細胞新生仮説である。アストロサイトは海馬神経細胞新生を調節し⁴⁾、海馬神経細胞新生を調節する様々な神経栄養因子・成長因子の源であり⁵⁾、抗うつ薬はアストロサイトからの FGF2 分泌促進を介して間接的に神経細胞新生を促進する⁶⁾ことなどから、アストロサイトは海馬神経細胞新生の調節を介してうつ病の病態に関与している可能性が示唆される。

ECT の動物モデルである電気刺激 (ECS) は海馬神経細胞新生を強く促進し⁷⁾、ECT を行った患者の末梢血で神経細胞新生を調節する転写因子: TCF7 の発現量が増加することから⁸⁾、ECT の作用機序への海馬神経細胞新生の関与が示唆されている。また、上述の通り、アストロサイトは海馬神経細胞新生を調節している。そこで応募者達は、ECT の作用機序へのアストロサイトの関与の可能性を検討した。その結果、マウス海馬アストロサイトにおいてコルチコステロン投与によるうつ病様症状の誘発とその ECS による回復に関与する分子として Ser/Thr kinase である SGK1 を同定した⁹⁾。

【目 的】

ECT の作用機序においてアストロサイトの SGK1 が果たす機能を詳細に検討することにより、ECT と同様の即効性・有効性を有する新規抗うつ薬の開発を可能にすることを、本研究の目的とする。

【方 法】

①SGK1の*in vivo*でのうつ病様症状の誘発とそのECSによる回復への関与の検討

SGK1 が実際にマウスで ECS の抗うつ効果に関与するかを検討するために、コンディショナルノックアウトマウスやウイルスベクター局所注入を適切に組み合わせて海馬アストロサイトで選択的に SGK1 を発現抑制または強制発現する実験系を確立することにより、SGK1 の *in vivo* での機能解析を行う。

②海馬アストロサイトの初代培養系を用いたECSによるSGK1の発現抑制の分子メカニズムの解明

マウス海馬由来のアストロサイト初代培養系を用いて、ECS が SGK1 の発現を抑制する詳細な分子メカニズムを検討する。アストロサイトは電気刺激に原則不応性であるため、ECS によりニューロンから放出されるニューロン・グリアクロストークを媒介する物質 (ATP やグルタミン酸など) がアストロサイトに作用して SGK1 の発現を抑制すると考えられるので、まずそのような物質がアストロサイトで実際に SGK1 の発現を抑制するかを検討した上で、詳細なメカニズムの検討を行う。必要に応じて RNA-seq など網羅的発現解析を行う。

【結 果】

まず上記①を行うために、アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターとアストロサイト選択的に発現している代表的な分子・GFAP

のプロモーターを用いて、マウス海馬のアストロサイトで選択的に SGK1 を後天的に強制発現させる実験系の構築に取り組んだ。まず予備実験として、アストロサイト指向性の高いセロタイプの AAV ベクター(AAV2/5)に GFAP の変異型プロモーター(ニューロンでの発現を抑制しアストロサイトでの選択性を増加させる)と蛍光蛋白・GFP を組み込んだベクターを作成して、海馬に局所注入を行い、組織免疫染色により GFP の発現の確認を行った。様々なウイルス濃度や局所注入のタイミングを試みたが、アストロサイトで選択的に GFP を発現させる条件を残念ながら見出すことができなかった。

【考 察】

アストロサイトに選択的に発現していると言われている分子の多くはニューロンでも発現しており、他のグリア細胞であるミクログリアやオリゴデンドロサイトに比べて、アストロサイトで選択的に目的の分子を強制発現させるのは困難であると考えられる。今回は GFAP の変異型プロモーターを用いたがうまくいかなかったため、今後は他のアストロサイトで選択的に発現しているプロモーターを試みつつ、Cre-LoxP など別の系を用いる工夫が必要であると考えられる。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究により ECT の作用機序に関与する分子・シグナル伝達経路が同定されると、ECT と同様の優れた即効性・有効性を有する新規抗うつ薬の開発が可能になると考えられる。そのような新規抗うつ薬が開発された暁には、うつ病の治療が大きく発展すると期待される。従って、本研究は精神科臨床に大きく貢献するものと確信している。

【参考・引用文献】

1. Si X, Miguel-Hidalgo JJ, O'Dwyer G et al. Age-dependent reduction in the level of glial fibrillary acidic protein in the prefrontal cortex in major depression. *Neuropsychopharmacology*, 29: 2088–2096, 2004.
2. Banasr M, Duman RS. Glial loss in the prefrontal cortex is sufficient to induce depressive-like behaviors. *Biol Psychiatry*, 64: 863–870, 2008
3. Iwata M, Shirayama Y, Ishida H et al. Hippocampal astrocytes are necessary for antidepressant treatment of learned helplessness rats. *Hippocampus*, 21: 877–884, 2011
4. Song H, Stevens CF, Gage FH. Astroglia induce neurogenesis from neural stem cell. *Nature*, 417: 39–44, 2002.
5. Kajitani N, Hisaoka-Nakashima K, Morioka N et al. Antidepressant acts on astrocytes leading to an increase in the expression of neurotrophic/growth factors: Differential regulation of FGF-2 by noradrenaline. *PLoS One*, 7: e51197, 2012.
6. Boku S, Hisaoka-Nakashima K, Nakagawa S et al. Tricyclic antidepressant amitriptyline indirectly increases the proliferation of adult dentate gyrus-derived neural precursors: An involvement of astrocytes. *PLoS One*, 8: e79371, 2013
7. Malberg JE, Eisch AJ, Nestler EJ et al. Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult rat hippocampus. *J Neurosci*, 20: 9104–9110, 2000
8. Kaneko T, Kanazawa T, Nishiguchi M et al. Microarray analysis of human blood during electroconvulsive therapy. *J ECT*, 31: 234–237, 2015
9. Miyako K, Kajitani N, Koga Y et al. Identification of the antidepressant effect of electroconvulsive stimulation-related genes in hippocampal astrocyte. *J Psychiatr Res*, 170: 318–327, 2024