

特集 2 新規治療標的としてのグリアの可能性

4. 気分障害におけるグリア研究と創薬に向けた試み

竹林 実*

抄録：精神疾患死後脳のグリア関連遺伝子発現の異常およびアストロサイトの細胞数の減少などが報告され、ニューロンとグリアの相互作用に着目した視点が病態解明や治療法開発に重要である。筆者らは、アストロサイトに貯蔵されている複数の神経栄養因子の中でグリア細胞株由来神経栄養因子 (GDNF) に着目し、気分障害患者への関与や、特に古典的な三環系抗うつ薬が直接的にアストロサイトに作用し、モノアミンやアセチルコリンとは異なった機序で発現を誘導することを見いだした。さらに、その抗うつ薬ターゲット分子は、リゾリン脂質の G 蛋白結合型受容体の一つであるリゾホスファチジン酸 (LPA) 1 受容体であることを見いだした。三環系抗うつ薬は、1950 年代に偶然見つかった抗うつ薬のプロトタイプであり、未だに重症例や難治例患者に SSRI や SNRI を凌ぐ臨床効果を示す場合や、躁転のリスクも高いことから、その薬理作用は強力な抗うつ作用と関連する可能性がある。マウス脳内では、LPA1 受容体は部位によって発現が異なり、アストロサイト、オリゴデンドロサイトなどの細胞腫に局限していた。また、LPA1 受容体の内因性リガンド LPA の合成酵素であるオートタキシン (ATX) 濃度は、うつ病患者の血液および脳脊髄液中では、いずれも有意に低下しており、抑うつ症状スコアおよび治療経過と有意な相関を認めた。LPA は神経・血管新生や炎症に関連し、また LPA1 受容体ノックアウトマウスは抑うつ症状様の行動を呈することから、ATX/LPA/LPA1 受容体を介したリゾリン脂質カスケードは気分障害の病態解明・治療薬開発の新しい分子基盤となる可能性がある。

日本生物学的精神医学会誌 32 (1) : 44-50, 2021

Key words : mood disorders, glia, astrocyte, neurotrophic/growth factor, tricyclic antidepressant, lysophosphatidic acid 1 receptor

1. 気分障害におけるグリア仮説とアストロサイトの異常

気分障害において、死後脳研究や脳画像研究において、前頭前野や前部帯状回などの特定の領域では神経細胞よりもむしろグリアの密度の有意な減少や糖エネルギー代謝の低下などの知見が集積している^{2, 14)}。動物モデルにおいては、慢性ストレス状態では、前頭部のアストロサイトの密度が低下し、一方、正常ラットの前頭葉皮質へアストロサイト特異的な障害を与える化学物質を投与すると、うつ病様の行動を示すことが報告されている¹⁾。死後脳および動物モデルの研究はいずれも気分障害におけるアストロサイトの重要性を示唆する。

気分障害の前頭部の特定の領域のアストロサイト

の密度や機能が低下していることから、アストロサイトの有する神経栄養因子・成長因子の産生能の低下やストレス下で過剰に神経から細胞外へ遊離されるグルタミン酸の取り込み能の低下により、細胞障害を受けやすい脳内環境が示唆される (ストレス脆弱性)。神経、アストロサイト、血管は三つ組として密着しシナプス形成 (tripartite synapse) していることが知られているので¹⁰⁾、アストロサイトの機能低下はそれ自身のみならず血流・エネルギー代謝低下、シナプス機能不全などを引き起こす。また、うつ病患者の死後脳において、血管壁に接着するアクアポリン 4 抗体陽性のアストロサイトの突起部分の低下の報告がなされている¹⁵⁾。したがって、気分障害の脳機能画像所見でよく知られている前頭部血流や糖エネルギー代謝の低下所見もアストロサイ

Glia research and drug discovery attempts for mood disorders

*熊本大学大学院生命科学研究部神経精神医学講座 (〒 860-8556 熊本市中央区本荘 1-1-1) Minoru Takebayashi : Department of Neuropsychiatry, Faculty of Life Sciences, Kumamoto University. 1-1-1, Honjo, Kumamoto Chuo-ku, Kumamoto 860-8556, Japan
【竹林 実 E-mail : mtakebayashi@kumamoto-u.ac.jp】

ト・シナプス・血管機能不全と連動して生じている可能性がある。すなわち、神経・グリア・血管の複合系で精神機能を理解する必要がある。

2. 気分障害患者におけるグリア細胞株由来神経栄養因子 (GDNF) の関与

アストロサイトは、神経栄養因子、成長因子、サイトカインの合成と遊離を営んでいる。具体的には、グリア細胞株由来神経栄養因子 (glial cell line-derived neurotrophic factor: GDNF)、繊維芽細胞成長因子 (fibroblast growth factor: FGF)、血管内皮細胞成長因子 (vascular endothelial growth factor: VEGF)、神経栄養因子 (nerve growth factor: NGF)、毛様体神経栄養因子 (ciliary neurotrophic factor: CNTF)、インスリン様成長因子 (insulin-like growth factor I: IGF-1)、上皮成長因子 (epidermal growth factor: EGF)、脳由来神経栄養因子 (brain-derived neurotrophic factor: BDNF) などの多種多様の栄養因子・成長因子の合成・遊離をオートクラインまたはパラクライン的に行っており、グリア自身や近傍の神経細胞に対して放出され作用を及ぼしていると考えられる^{18, 19)}。

グリア細胞株由来神経栄養因子である GDNF は、ドーパミン神経や他の神経系の保護作用を有し、TGF- β (transforming growth factor- β) スーパーファミリーに属し、Ret (rearranged during transfection)、GFR α (GDNF family receptor α)、NCAM (neural cell adhesion molecules) が受容体として知られている。脳全体に広く分布し、脊髄、腎臓などの臓器にも存在する。ヘテロノックアウト動物を用いた検討などから、GDNF が、神経新生促進、認知機能改善や薬物依存の抑制などの高次脳機能に関与することが知られている。

われわれは、気分障害患者の血液中の GDNF 濃度を検討したところ、健常者と比較して有意に低下していることを報告した¹⁷⁾。その後追試され、メタ解析でも気分障害では血中 GDNF 濃度は低下し、治療により増加することが報告されている¹¹⁾。患者死後脳においても、頭頂部の領域で GDNF 濃度が変化していることも報告されている。

3. アストロサイトにおける三環系抗うつ薬 (TCA) の神経栄養因子・成長因子群の誘導作用

気分障害の病態・治療仮説として、今まで神経新

生などの神経可塑的变化を軸に BDNF 仮説が発展してきた。最近では、BDNF だけでなく、神経新生、血管新生の調節に重要な役割を有する FGF2 や VEGF も気分障害に関連することが報告されている¹⁶⁾。FGF2 と VEGF はアストロサイトに強く発現しており、これらのことは、気分障害の病態・治療において、BDNF 単独ではなく、複数の神経栄養因子・成長因子群がシステムとして関与することを示しており、グリアの重要性を示唆する。

ラット大脳皮質・海馬培養アストロサイトおよびニューロンを分けて、神経栄養因子・成長因子の発現について検討を行ったところ、アストロサイトは、抗うつ薬の処置により気分障害に関連の報告のある主要な BDNF、GDNF、FGF2、VEGF mRNA の発現をすべて有意に増加させた⁷⁾。一方、ニューロン単独では抗うつ薬処置により、NGF 以外のいずれの神経栄養因子・成長因子の発現の増加をしなかった⁷⁾。これらのことは、抗うつ薬はアストロサイトに直接的に作用して複数の神経栄養因子・成長因子群の発現を増加させる可能性がある。また、複数の抗うつ薬を用いて、アストロサイトにおける GDNF 発現の誘導作用と細胞内情報伝達系の活性化 (ERK リン酸化) を指標として分類したところ、選択的セロトニン再取り込み阻害薬 (selective serotonin reuptake inhibitor: SSRI) やセロトニン・ノルアドレナリン再取り込み阻害薬 (serotonin noradrenaline reuptake inhibitor: SNRI) などの新規抗うつ薬よりも古典的抗うつ薬 (三環系、四環系) に強い傾向があり、抗コリン作用や抗ヒスタミン作用とは無関係であった^{13, 19)} (図 1)。

入院を必要とする重症うつ病やメランコリー型うつ病では三環系抗うつ薬 (tricyclic antidepressants: TCA) のほうが SSRI よりも効果が上回るとする報告が多くあり、TCA のほうが SSRI/SNRI よりも躁転のリスクが高いことが一般的に知られている。

偶然発見された経緯からもわかるように、TCA はいわゆる多機能薬剤 (multi-functional drug, dirty drug) であり、その後モノアミン仮説が導かれ、選択性の高い SSRI/SNRI が開発され、現在汎用されるに至っている。TCA は、リン脂質、コレステロールなどと同じ両親媒性の分子で脂溶性であり、細胞膜の脂質が豊富なマイクロドメイン (ラフト) に集積し、細胞内へ透過すると考えられる。また、TCA の分子動力学計算から得られた 3 次元構造および分子の運動性は想像以上に複雑で動きが早く、多種多様な作用点が予想される。したがって、SSRI/SNRI が開発される途中で、TCA の元来有する多彩

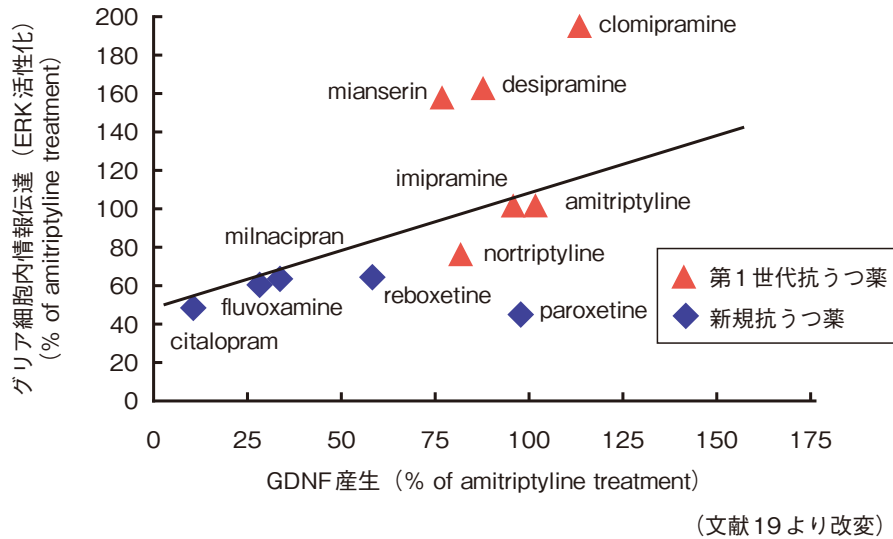


図1 三環系抗うつ薬はグリアにおいてGDNF増加作用が強い傾向がある

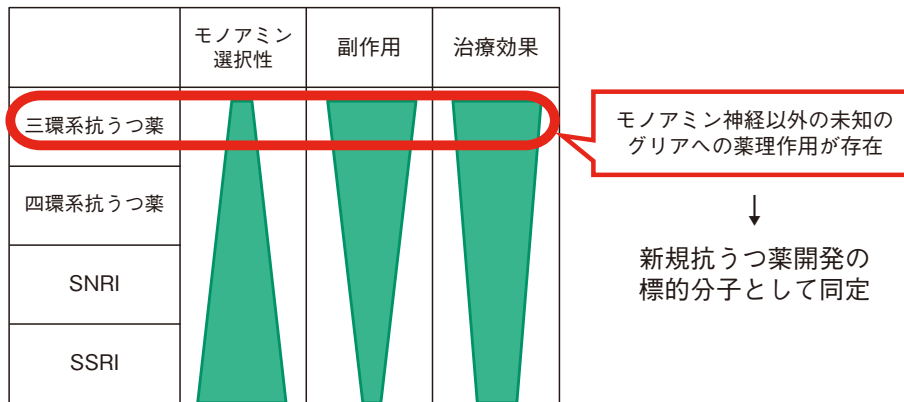


図2 三環系抗うつ薬は臨床効果が高く、モノアミン以外の未知のグリアへの薬理作用が存在する (著者作成)

な作用が失われ、その中にグリアへの新規薬理作用が含まれている可能性があり、メカニズムの解明を進めた (図2)。

4. アストロサイトにおける TCA の リゾフォスファチジン酸 (lysophosphatidic acid : LPA) 1 受容体を介した GDNF 誘導作用のメカニズム

TCA の GDNF 誘導作用を詳細に検討したところ、モノアミン系を介していなかった。一方で、TCA による GDNF 誘導作用は、アストロサイトへの直接作用であり、主要な細胞内情報伝達系の酵素である MEK/ERK/CREB 経路を活性化して、GDNF が合成される。さらに、TCA による ERK の活性化へ至るまでには何段階も複雑なステップがあり、TCA により G 蛋白が活性化され、Src チロシンキナー

ゼ→マトリックスメタロプロテアーゼ (matrix metalloproteinase : MMP) -3, -9 → FGF2 リガンドの切り出し→ FGF 受容体のカスケードが活性化され、前述の MEK/ERK/CREB 経路の活性化が短時間の間に行われる⁴⁾。この TCA の引き起こす、G 蛋白の活性化に引き続く MMP を介したチロシンキナーゼ受容体 (FGF 受容体など) 活性化機構は「トランスアクチベーション」と呼ばれる G 蛋白結合型受容体 (G protein-coupled receptor : GPCR) - チロシンキナーゼ受容体の複合的活性化の現象と類似していた²⁰⁾。したがって、TCA の作用する GPCR「抗うつ薬受容体」の存在が予想された⁵⁾。最終的に、この抗うつ薬受容体は内在性リズリン脂質の一つであるリゾフォスファチジン酸 (LPA) の作用する GPCR の一つである LPA1 受容体であることを明らかにした⁸⁾ (図3)。

LPA1 受容体の脳内分布や細胞腫ごとの比率に関

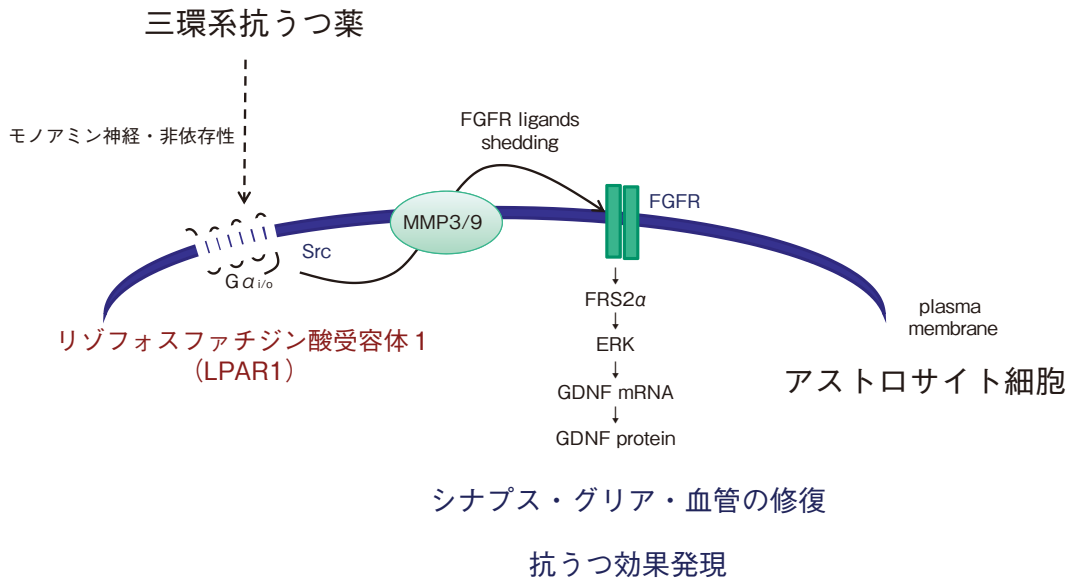


図3 アストロサイトにおける三環系抗うつ薬のGDNF発現誘導の作用機序 (著者作成)

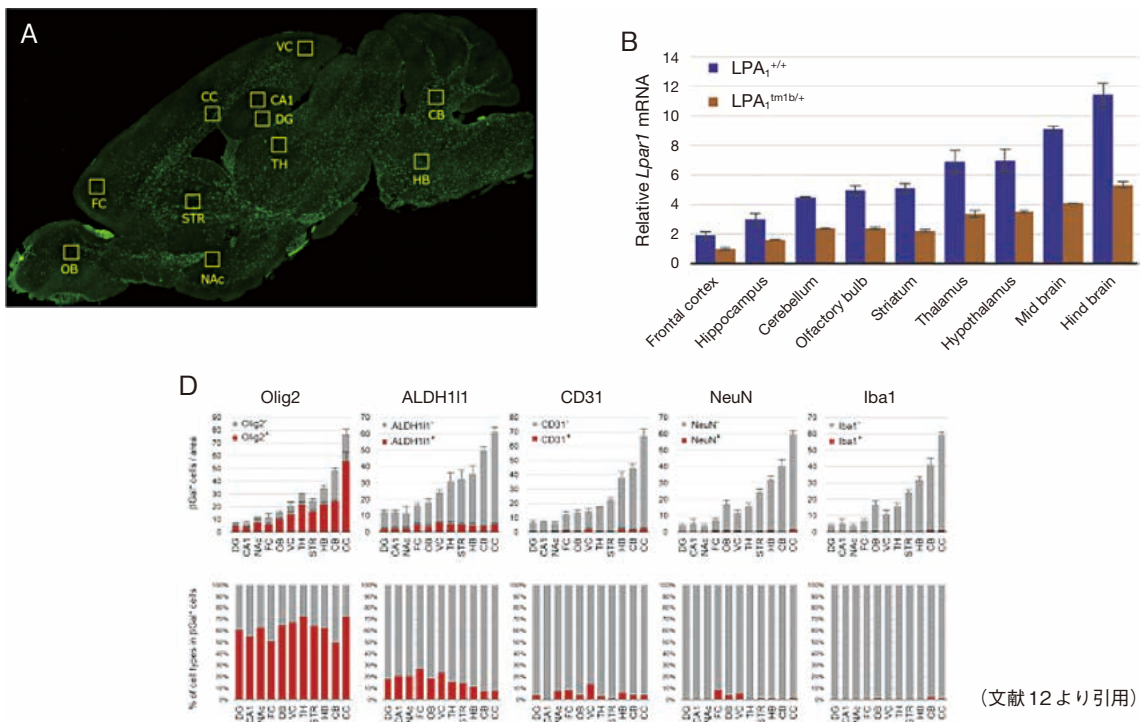


図4 マウス脳内におけるLPA1受容体mRNAの分布

LPA1受容体遺伝子発現は脳内で異なっており、オリゴデンドロサイト、アストロサイト、血管内皮の一部で発現し、神経・ミクログリアではほとんど発現していない

しては今まで不明であったため、マウスを用いてLPA1受容体mRNAの発現を検討した。その結果、脳内で分布は異なっており、オリゴデンドロサイト、アストロサイトで主に発現し、神経・ミクログリアではほとんど発現していないこと、すなわち脳内ではグリア特異的な受容体であることが改めて確認された⁹⁾。(図4)

5. うつ病患者におけるLPA合成酵素オートタキシン(ATX)蛋白の低下およびリゾリン脂質関連分子ATX/LPA/LPA1受容体に関する仮説

LPA受容体はGPCRの一つであり、ヒト4番の染色体に位置し、6つのサブタイプがあることが知

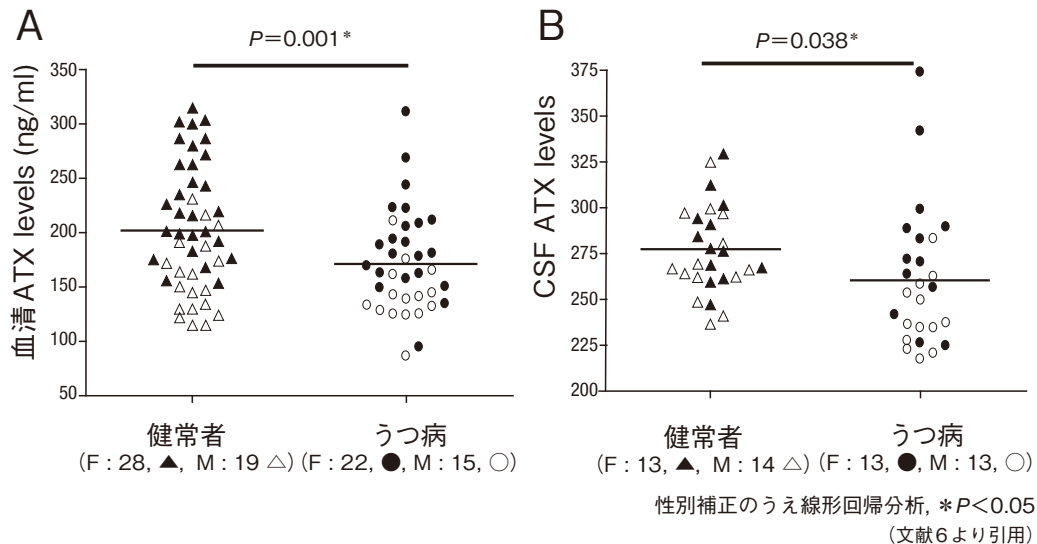


図5 うつ病の血清および脳脊髄液中オートタキシン (ATX) 値は健常者よりも有意に低い

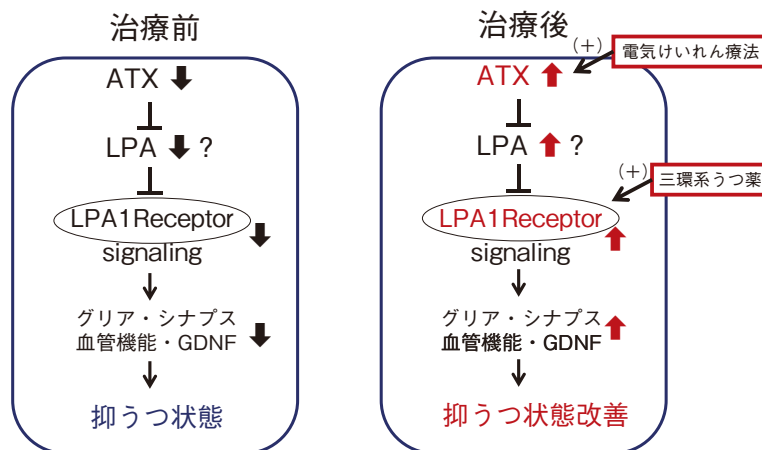


図6 うつ病におけるリゾリン脂質関連分子ATX/LPA/LPA 1受容体に関する仮説 (著者作成)

られている。その内因性のリガンドであるLPAはオートタキシン (autotaxin: ATX) 蛋白により加水分解されて生合成される低分子グリセロリン脂質であり、脂質メディエーターとして知られている。全身のさまざまな臓器に存在するが、脳機能へは、発育期において神経前駆細胞の増殖・分化を調節、成体海馬における神経新生・神経突起の伸張・血管新生、脳内炎症・浮腫などに関与することが知られている。精神疾患との関連としては、LPA1受容体ノックアウトマウスは不安性うつ病と類似の行動を示し¹²⁾、海馬のシナプス回路異常 (CaMKII および興奮性シナプス異常) の報告がなされている¹³⁾。

基礎研究からは、うつ病へのLPA/LPA1受容体の関与が示唆されるが、患者を用いた検討は行われていない。また、LPAは多数の分子種があり代謝を容易に受けやすく不安定であるため、比較的安定しているLPAの合成酵素であるオートタキシン

(ATX) 蛋白をサロゲートマーカーとして用いた。うつ病患者の血液および脳脊髄液において、ATX濃度はいずれも、健常者と比較して有意に低下しており (図5)、血液中のATXは抑うつ症状スコアと負の相関を示し、電気けいれん療法の治療により有意に増加した⁶⁾。これらの結果から、図6のような作業仮説を想定し、現在病態および創薬研究を行っている。

なお、本論文に記載した著者らの研究に関してすべて倫理的配慮を行っている。また本論文に関して開示すべき利益相反はない。

謝辞：これまでの研究にかかわってくれたすべての研究者、患者様、ボランティアの方に深謝いたします。

文 献

- 1) Banasr M, Chowdhury GM, Terwilliger R, et al

- (2010) Glial pathology in an animal model of depression : reversal of stress-induced cellular, metabolic and behavioral deficits by the glutamate-modulating drug riluzole. *Mol Psychiatry*, 15 : 501-511.
- 2) Drevets WC, Price JL, Simpson JR Jr , et al (1997) Subgenual prefrontal cortex abnormalities in mood disorders. *Nature* , 386 : 824-827.
- 3) Hisaoka K, Takebayashi M, Tsuchioka M, et al (2007) Antidepressants increase glial cell line-derived neurotrophic factor production through monoamine independent activation of protein tyrosine kinase and extracellular signal-regulated kinase in glial cells. *J Pharmacol Exp Ther*, 321 : 148-157.
- 4) Hisaoka K, Tsuchioka M, Yano R, et al (2011) Tricyclic antidepressant amitriptyline activates fibroblast growth factor receptor (FGFR) signaling in glial cells : Involvement in glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) production. *J Biol Chem*, 286 : 21118-21128.
- 5) Hisaoka-Naashima K, Miyano K, Matsumoto C, et al (2015) Tricyclic antidepressant amitriptyline-induced glial cell line-derived neurotrophic factor production involves pertussis toxin-sensitive $G_{\alpha i/o}$ activation in astroglial cells. *J Biol Chem*, 290 : 13678-13691.
- 6) Itagaki K, Takebayashi M, Abe H, et al (2019) Reduced Serum and Cerebrospinal Fluid Levels of Autotaxin in Major Depressive Disorder. *Int J Neuropsychopharmacol*, 22 : 261-269.
- 7) Kajitani N, Hisaoka-Nakashima K, Morioka N, et al (2012) 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.
- 8) Kajitani N, Miyano K, Okada-Tsuchioka M, et al (2016) Identification of Lysophosphatidic Acid Receptor 1 in Astroglial Cells as a Target for Glial Cell Line-derived Neurotrophic Factor Expression Induced by Antidepressants. *J Biol Chem* , 291 (53) : 27364-27370.
- 9) Kajitani N, Okada-Tsuchioka M, Kano K, et al (2020) Differential anatomical and cellular expression of lysophosphatidic acid receptor 1 in adult mouse brain. *Biochem Biophys Res Commun*, 531 (2) : 89-95.
- 10) Kettenmann H and Ransom BR (2005) *Neuroglia*, Oxford University Press, New York.
- 11) Lin PY and Tseng PT (2015) Decreased glial cell line-derived neurotrophic factor levels in patients with depression : a meta-analytic study. *J Psychiatric Res* , 60 : 20-27.
- 12) Moreno-Fernández RD, Pérez-Martín M, Castilla-Ortega E, et al (2017) *malPA1*-null mice as an endophenotype of anxious depression. *Transl Psychiatry*, 7 (4) : e1077.
- 13) Musazzi L, Di Daniel E, Maycox P, et al (2011) Abnormalities in α/β -CaMKII and related mechanisms suggest synaptic dysfunction in hippocampus of LPA1 receptor knockout mice. *Int J Neuropsychopharmacol* , 14 : 941-953.
- 14) Ongür D, Drevets WC and Price JL (1998) Glial reduction in the subgenual prefrontal cortex in mood disorders. *Proc Natl Acad Sci U S A* , 95 : 13290-13295.
- 15) Rajkowska G, Hughes J, Stockmeier CA, et al (2013) Coverage of Blood Vessels by Astrocytic Endfeet Is Reduced in Major Depressive Disorder. *Biol Psychiatry* , 73 : 613-621.
- 16) Takebayashi M, Hashimoto R, Hisaoka K, et al (2010) Plasma levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) and fibroblast growth factor 2 (FGF-2) in patients with major depressive disorders. *J Neural Transm (Vienna)* , 117 : 1119-1122.
- 17) Takebayashi M, Hisaoka K, Nishida A, et al (2006) Decreased levels of whole blood glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) in remitted patients with mood disorders. *Int J Neuropsychopharmacol*, 9 : 607-612.
- 18) 竹林 実, 久岡一恵, 土岡麻美 (2005) 気分障害と神経栄養因子・成長因子について. *精神科* , 6 : 268-271.
- 19) Takebayashi M, Hisaoka K and Tsuchioka M (2009) Glial dysfunction in mood disorders : the role of GDNF. In *Recent Developments on Depression Research* (eds Shirayama Y, Chaki S) *Reserch Signpost* , India, pp125-143.
- 20) Tsuchioka M, Takebayashi M, Hisaoka K, et al (2008) Serotonin (5-HT) induces glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) mRNA expression via the transactivation of fibroblast growth factor receptor 2 (FGFR2) in rat C6 glioma cells. *J Neurochem*, 106 : 244-257, 2008

■ ABSTRACT

Glia research and drug discovery attempts for mood disorders

Minoru Takebayashi

Department of Neuropsychiatry, Faculty of Life Sciences, Kumamoto University

A viewpoint focusing on the interaction between neurons and glia is important for elucidating the pathophysiology and developing therapeutics in psychiatric disorders. We focus on glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) among the multiple neurotrophic factors stored in astrocytes, involved in mood disorder patients. Especially classical tricyclic antidepressants have been found to act directly on astrocytes and induce GDNF expression by a mechanism different from that of monoamines and acetylcholine. Furthermore, we found that the antidepressant target molecule is lysophosphatidic acid (LPA) receptor 1, which is one of the G protein-coupled receptors of lysophospholipids. Tricyclic antidepressants are prototypes of antidepressants found by chance in the 1950s, and are still showing clinical efficacy over SSRIs and SNRIs in severe and refractory patients, and the high risk of manic change. Its pharmacological effects may be associated with potent antidepressant effects. In mouse brain, LPA1 receptor expression was different depending on the site and was localized to astrocytes and oligodendrocytes. In addition, the concentration of autotaxin (ATX), which is an LPA synthase, was significantly decreased in the blood and cerebrospinal fluid of depressed patients, and was significantly correlated with the depressive symptoms and the course of treatment. Since LPA is associated with neurogenesis, angiogenesis and inflammation, and LPA1 receptor knockout mice exhibit depressive like behavior, the ATX/LPA/LPA1 receptor-mediated lysophospholipid cascade is the potential to become a new molecular basis for the pathophysiology of mood disorders and develop therapeutics. No potential conflicts of interest were disclosed.

(Japanese Journal of Biological Psychiatry 32 (1) : 44-50, 2021)
