

氏 名	大久保 雅則
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	博士 甲第686号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成25年 9月11日
学位論文題目	Antidepressants and mood stabilizers effects on histone deacetylase expression in C57BL/6 mice: brain region specific changes (C57BL/6 マウスにおける抗うつ薬と気分安定薬のヒストン脱アセチル化酵素発現に与える効果；脳部位特異的変動)
審査委員	主査 教授 等 誠司 副査 教授 野崎 和彦 副査 教授 遠山 育夫

論文内容要旨

*整理番号	692	(ふりがな) 氏名	おおくぼ まさのり 大久保 雅則
学位論文題目	Antidepressants and mood stabilizers effects on histone deacetylase expression in C57BL/6 mice: brain region specific changes (C57BL/6 マウスにおける抗うつ薬と気分安定薬のヒストン脱アセチル化酵素発現に与える効果；脳部位特異的変動)		
<p>【目的】 大うつ病の抑うつ症状は、シナプス間隙におけるモノアミン濃度の上昇を作用機序とする抗うつ薬によって改善することから、モノアミン仮説が大うつ病の有力な病態仮説であるとされている。しかし、近年は治療抵抗性の大うつ病を有する患者に対して、モノアミン濃度の上昇以外の作用機序を有するリチウム、抗てんかん薬、非定型抗精神病薬を増強療法として併用することが一般的となっている。ヒストン脱アセチル化酵素 (HDACs) と精神神経疾患の関係性は近年注目され始めており、白血球中の HDACs が大うつ病の抑うつ期と寛解期に相関し変動することが報告されている。さらに、動物実験では HDAC 阻害薬の抗うつ効果が報告されている。</p> <p>HDACs は遺伝子発現を後天的に制御するエピジェネティックな機能をもつタンパク群であるが HDACs の発現強度には、脳細胞の種類と脳部位別に局在性が認められる。我々は、HDACs による遺伝子発現の制御が神経機能異常に深く関与するのではないかと仮説に基づき、動物への薬物投与実験から、抗うつ効果を有する薬剤に共通して発現する HDACs への効果を捉える事から、モノアミン仮説によらない新しい抗うつ薬の作用機序の解明を目的とし本研究を行った。</p> <p>【方法】 C57BL/6 系マウス(8 週令)に各種薬物投与を行い、気分安定化に重要な HDACs と脳領域を探る計画を立てた。</p> <p>1) 臨床に用いられる気分安定薬(7 種)と抗うつ薬(4 種)の 14 日間腹腔内投与 気分安定薬;リチウム(Li)、パルプロ酸(VPA)、カルバマゼピン(CBZ)、ラモトリジン(LTG)、レベチラセタム(LTM)、オランザピン(OLZ)、クロザピン(CLZ)や抗うつ薬;クロミプラミン(CLM)、エスシタロプラム(ECM)、デュロキセチン(DLX)、ミルタザピン(MIR)の 14 日間 1 日 1 回投与。</p> <p>2) モノアミンの組織内濃度を High Performance Liquid Chromatography-Electrochemical Detection (HPLC-ECD)を用いて定量 14 日間投与後の翌日に、各脳領域;前帯状回(Cg)、線条体(ST)、側坐核(Acb)、海馬(Hip)、扁桃核(Amy)における ドーパミン、セロトニン、ノルエピネフリンの濃度を検出する。</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等で印字すること。
 2. ※印の欄には記入しないこと。

(続 紙)

3) エピジェネティックな変動の検討

同様に各脳領域での Acetylated Histone H3 と HDACs (HDAC1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 10) の変化をウエスタンブロット法にて検出する。

【結果】

1) モノアミン組織内濃度に与える各種薬剤の影響

抗うつ薬の ECM, DLX, MIR は共通して ST, Cg におけるドーパミン、セロトニンの濃度上昇をもたらした。しかし、CLM はドーパミン、セロトニン、ノルエピネフリンの ST での低下をもたらした。気分安定薬は OLZ と CLZ は ST でのドーパミン、セロトニンの有意な上昇をもたらした。CBZ, LTM, OLZ, CLZ は Cg でのドーパミンとセロトニンの有意な上昇をもたらした。しかし、Acb, Hip, Amy では共通した影響は認められなかった。

2) エピジェネティックな効果

・Acetylated Histone H3 に下記の有意なアセチル化の亢進を共通にもたらした。

抗うつ薬 CLM, ECM, DLX, MIR で Amy での有意な亢進

気分安定薬 VPA, Li, LTG, LTM, OLZ, CLZ で Cg での有意な亢進

気分安定薬 VPA, Li, LTG, LTM, OLZ, CLZ と抗うつ薬 CLM, ECM, DLX で Acb での有意な亢進

・HDACs のタンパク発現の亢進を下図のようにもたらした

	ST	Cg	Amy
Antidepressant	HDAC2, HDAC3 CLM, ECM, DLX, MIR	HDAC2, HDAC3 CLM, MIR	HDAC3 CLM, ECM, DLX, MIR
	HDAC5 CLM, ECM, MIR		HDAC5, HDAC10 ECM, DLX, MIR
Mood stabilizer	HDAC3 VPA, CBZ, LTG, LTM, OLZ, CLZ	HDAC1, HDAC3, HDAC8 VPA, CBZ, LTG, LTM, OLZ, CLZ	HDAC3 CBZ, LTG, LTM, OLZ, CLZ
	HDAC2, HDAC8 CBZ, LTG, LTM, OLZ, CLZ	HDAC5 VPA, CBZ, LTG, LTM, OLZ	HDAC5 VPA, CBZ, LTG, LTM, OLZ
	HDAC5 CBZ, LTG, LTM, OLZ	HDAC2 VPA, LTM, OLZ, CLZ	

【考察】

結果1) から、従来のモノアミン仮説にて抗うつ薬の効果に関しては、その重要性を説明できるが、気分安定薬の抗うつ効果については説明が困難であることを示唆する結果が得られた。しかし、結果2) からは、エピジェネティックな効果であるヒストン修飾と修飾因子の変動が抗うつ薬のみならず、気分安定薬にまで幅広く共通して発現することを明らかにした。また個々のプロフィールの違いは併用による増強効果との関連性も考えられる。特に ST, Cg, Amy という意思決定や情動に重要な領域で HDAC2, 3, 5 には抗うつ効果との重要な関連性があると考えられた。

【結論】

本研究では抗うつ効果の新たな作用機序仮説とそのターゲット領域に関する結果が得られた。これらの結果は、新たな抗うつ薬開発に繋がる可能性を示唆している。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	692	氏名	大久保 雅 則
論文審査委員			
<p>(学位論文審査の結果の要旨) (明朝体11ポイント、600字以内で作成のこと。)</p> <p>これまで、大うつ病の治療薬として、モノアミン仮説に基づく創薬が行われてきたが、最近抗うつ薬が単に脳内のモノアミンを増やすことで効果を発揮しているのではないという説が有力になっている。実際、気分安定薬が抗うつ作用をもつことから、モノアミン量の調節以外の機序が考えられる。特に、精神疾患におけるエピジェネティクスの関与が提唱されていることから、抗うつ薬と気分安定薬投与時の各脳領域におけるモノアミン量とエピジェネティクス関連遺伝子の変化について、詳細な解析を行った。</p> <p>その結果、以下の点を明らかにした。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 抗うつ薬(4種類)の投与により、セロトニンやノルアドレナリン、ドーパミンの脳内含有量に変化を認めた。これらの効果は脳部位特異的であった。 2. 気分安定薬(全7種類)の投与による脳内モノアミン含有量に、一定の傾向は認めなかった。 3. 抗うつ薬投与によって気分と関連の深い扁桃体や海馬において、気分安定薬投与によって前帯状回と側坐核において、ヒストンH3アセチル化が亢進していた。 4. 抗うつ薬および気分安定薬の投与によって、さまざまな脳部位で異なるヒストンデアセチラーゼの発現量に変化していることが判った。 <p>本論文は、抗うつ薬や気分安定薬の薬理作用について新しい知見を与えたものであり、最終試験として論文内容に関連した試問を受け合格したので、博士(医学)の学位論文に値するものと認められた。</p> <p style="text-align: right;">(総字数591字)</p> <p style="text-align: right;">(平成25年9月2日)</p>			