

東北医科薬科大学

審査学位論文（博士）要旨

氏名（本籍）	タカハシ コウヘイ 高橋 浩平（宮城県）
学位の種類	博士（薬科学）
学位記番号	博薬科第 16 号
学位授与の日付	平成 31 年 3 月 8 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条 1 項該当
学位論文題名	Memantine の抗うつ作用とその作用機序解明に関する研究
論文審査委員	主査 教授 溝口 広一
	副査 教授 丹野 孝一
	副査 教授 遠藤 泰之

Memantine の抗うつ作用とその作用機序解明に関する研究

東北医科薬科大学大学院薬学研究科

高橋 浩平

厚生労働省による 2016 年時点での有病率の統計調査によれば、うつ病は生涯において日本の人口の 4-7%に発症すると推定されている。このような状況下、うつ病が原因と考えられる自殺が社会問題となっており、うつ病の予防・治療に大きな関心が寄せられている。

アルツハイマー型認知症治療薬の memantine (MEM) は、大うつ病の患者に対し抗うつ作用を示すことが明らかにされた ketamine と同様に非競合的 *N*-methyl-D-aspartate (NMDA) 受容体 antagonist であるが、ketamine と異なり幻覚、幻聴等といった副作用が少なく、 $\alpha 7$ nicotine 受容体や serotonin (5-HT)₃ 受容体に対しても遮断作用を有している。また、当教室では MEM が脳内 dopamine (DA) や 5-HT の再取り込み阻害及び monoamine oxidase (MAO) 阻害作用を有することを明らかにしてきた。実際、臨床試験において MEM の長期投与がうつ病患者に対して効果的であることが報告されている。従って、MEM は既存の抗うつ薬の作用機序の基盤となるモノアミン神経系へ作用するだけでなく NMDA 受容体遮断作用などの多様な作用を有することから新たなタイプの抗うつ薬となり得る可能性が考えられる。

精神疾患モデル動物として用いられている嗅球摘出 (olfactory bulbectomy: OBX) 動物はうつ病患者の臨床症状に類似した行動学的変化や、神経化学的変化が発現するのが特徴である。さらに、病理解剖学的にも、OBX 動物の皮質・海馬・尾状核・扁桃体の萎縮ならびに脳室の拡大、神経新生の低下といった、うつ病患者でも認められる組織学的変化も確認されている。上記の異常行動や神経組織学的変化は、臨床を反映し抗うつ薬の急性ではなく慢性投与で改善す

る。従って、本モデルは臨床的妥当性を持ったうつ病モデルであると考えられ、古くから抗うつ薬の前臨床評価に用いられてきている。

以上示した背景を基に、うつ病モデル動物として OBX マウスを用い、本研究では、MEM の抗うつ作用について行動薬理的に検討し、さらにそのメカニズムについて神経新生並びに神経保護的な観点から神経化学的並びに分子生物学的手法により検討した。

術後 6 週目における OBX マウスは情動行動障害並びに強制水泳試験及びテールサスペンション試験において無動時間の延長が認められ、それらは MEM の急性ではなく 4 週間慢性投与によって有意に改善されたことから、MEM の慢性投与は抗うつ作用を示すことが明らかとなった。強制水泳試験やテールサスペンション試験の無動時間の延長は、noradrenaline (NAd) 神経系や DA 神経系の機能低下が関係しており、このモノアミン神経系の機能低下が OBX マウスで認められる。本研究において、モノアミン生合成における律速段階の酵素である tyrosine hydroxylase (TH) の活性を測定したところ TH は OBX マウスの海馬で有意に減少しており、この減少は MEM の慢性投与によって有意に改善されることを Western blot 法によって確認した。また、海馬 NAd 並びに DA に関しては OBX マウスにおいて Sham マウスと比較し有意に減少していたが DA の減少のみが MEM 慢性投与によって有意に改善された。DA の代謝回転の指標である DOPAC/DA 並びに HVA/DA に関して算出したところ MEM の慢性投与によって OBX マウスにおける DOPAC/DA 並びに HVA/DA が有意に抑制された。以前、当教室において MEM には MAO_B 阻害作用並びに DA 再取り込み阻害作用を有することを報告している。従って、MEM は海馬 DA の代謝回転を阻害し、DA を増加している可能性が示唆された。さらに、DA 受容体下流シグナル経路について検討を行ったところ protein kinase A (PKA)、DA- and cAMP-regulated

phosphoprotein-32 (DARPP-32)、extracellular signal-regulated protein kinase (ERK) 1/2、cAMP-responsive element binding protein (CREB) のリン酸化並びに brain-derived neurotrophic factor (BDNF) レベルが OBX マウスの海馬において低下しており、これらの変化は MEM の慢性投与によって改善された。抗うつ薬の作用機序として考えられている神経新生に関与している海馬 BDNF レベルが OBX マウスで低下していたことから海馬歯状回での細胞増殖並びに神経細胞への分化の変化を神経化学的並びに分子生物学的手法で検討した。その結果、OBX マウスの海馬歯状回での新生細胞数は有意な減少を示し、それに付随して未成熟神経細胞のマーカである DCX 並びに成熟神経細胞マーカである NeuN の発現レベルも有意に減少していた。これらの減少も MEM の慢性投与によって有意に改善された。これらの結果より MEM の抗うつ作用には、BDNF 上昇を介した海馬歯状回での細胞増殖促進並びに成熟神経細胞への分化が関与している可能性が示唆された。

次に神経保護的な観点から検討を行った。OBX マウスは海馬 p-I κ B- α 並びに p-NF- κ B p65 の活性化を介して TNF- α と IL-6 レベルが有意に増加しており、ミクログリアのマーカである Iba1 並びにアストロサイトのマーカである GFAP の免疫蛍光強度が強くなっていること並びに MEM の慢性投与によって有意に改善されることを共焦点レーザー顕微鏡並びに Western blotting 法によって確認した。また、MEM は OBX マウスでの海馬における抗アポトーシス性タンパクである Bcl-2 レベルの減少を改善させ、アポトーシス性タンパクである Bax には影響を与えなかった。一方で、OBX マウスでの海馬における cleaved caspase-3 レベルの上昇は MEM の投与によって有意に改善された。これらの結果から MEM は海馬内の caspase-3 活性化並びに Bcl-2/Bax のバランスを整えることによってアポトーシスを制御している可能性が示唆された。

以上、本研究で得られた結果を総括すると、MEMの慢性投与は①海馬におけるMAO阻害、DA取り込み阻害及びTHの活性化に起因してDAレベルを増加させ、DA受容体下流シグナル経路の活性化によるBDNF発現量増加を介した神経新生促進効果及び②活性化ミクログリアの抑制による炎症性サイトカイン分泌抑制とBcl-2発現量増加を介した神経保護効果により抗うつ作用を示す可能性を明らかにした (Fig. 1)。従って、MEMは認知障害の進行抑制のみならず情動障害や意欲の低下等の精神症状を改善する可能性を示した。

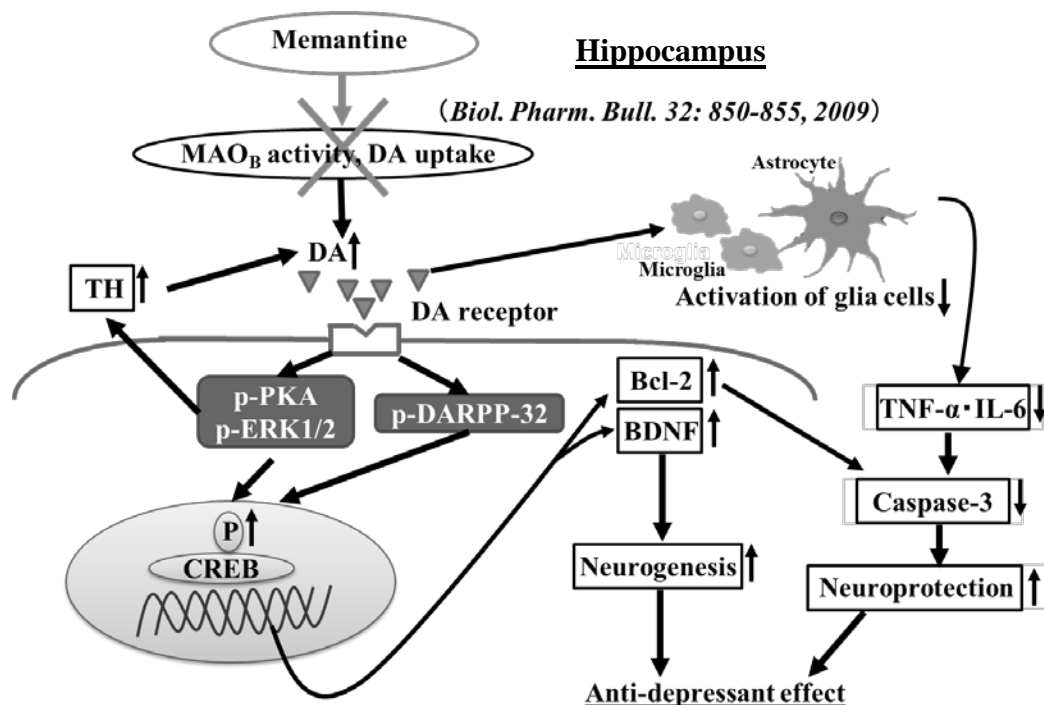


Fig. 1 Hypothesis of MEM antidepressant mechanism.

主論文 (原著論文)

Takahashi K, Nakagawasai O, Nemoto W, Kadota S, Isono J, Odaira T, Sakuma W, Arai Y, Tadano T, Tan-No K. Memantine ameliorates depressive-like behaviors by regulating hippocampal cell proliferation and neuroprotection in olfactory bulbectomized mice. *Neuropharmacology*, **137**: 141-155 (2018).