
成体脳における神経細胞新生と気分障害 — 動物の研究からわかることわからないこと

Adult neurogenesis and mood affective disorders — Implication and limitation of animal research

自然科学研究機構・生理学研究所分子神経生理部門／准教授

等 誠 司*

1. はじめに

神経幹細胞は、発達期の脳において全ての神経細胞・グリア細胞を産み出すのみならず、成体の脳にも存在し、終生に亘ってneurogenic regionと呼ばれる領域（齧歯類では嗅球や海馬）に新生神経細胞を供給する。成体脳における神経細胞新生の意義は、未だ充分に解明されていないが、嗅覚やある種の記憶に関係しているらしい。海馬における神経細胞の新生は、様々な外的環境によって変動するが、例えば、変化に富む環境でマウスを飼育することによって、新生神経細胞の数が増加する¹⁾。学習やエクササイズによっても海馬の神経細胞新生が増加する一方で、ストレス環境下では新生神経細胞は減少することがわかってきた²⁾。さらに、ストレスモデルマウスに対する抗うつ薬の効果が発揮されるには、海馬における神経細胞新生が必須であることが報告され³⁾、神経細胞新生と気分(障害)との関係が強く示唆された。

神経幹細胞には、特異的な細胞表面マーカーが同定されておらず、1個の神経幹細胞を追跡したり、数の変動を計測するのは容易ではない。比較的特異性の高いマーカーとして、NestinやMusashi1などが知られているが、神経幹細胞より分化の進んだ神経前駆細胞にも発現している。神経幹細胞は分裂細胞であるので、核酸類似物質であるBrdUの取込みで分裂細胞を標識する方法がしばしば用いられているが、標識される細胞の大部分は神経幹細胞ではなく、神経前駆細胞である。

一方、神経幹細胞を培養によって同定するやり方も知られており、Neurosphere assayと呼ばれている(図1)⁴⁾。脳室周囲組織の細胞をFGF2/EGFを含む無血清培地で培養すると、神経幹細胞が選択的に増殖し、5-7日後にはNeurosphereと呼ばれる浮遊細胞塊を生じる。低密度で培養した場合、1個のNeurosphereは1個の神経幹細胞由来であることから、脳に存在する神経幹細胞の数を見積もることができる。また、Neurosphere assayを利用して、神経幹細胞の自己複製能や多分化能を検証することができる。

2. 気分安定薬の神経幹細胞に対する効果

Neurosphere assayを用いて、神経幹細胞に直接作用して自己複製能を亢進させる薬剤のスクリーニングを行ったところ、双極性気分障害の治療に使われる気分安定薬のみにそのような効果が認められた(図2)⁵⁾。臨床の現場で気分安定薬を投与する際には、血中濃度を厳密にコントロールしなければならず、それを超えると副作用が出現したり重篤な場合は致死となり得る。気分安定薬の薬理作用をin vitroで測定する場合は、髄液中もしくは脳内の治療域濃度で行う必要があるであろう。これらの薬物、特にバルプロ酸(VPA)やカルバマゼピン(CBZ)は髄液移行が悪く、髄液中治療域濃度は血中濃度の15~20%である。Neurosphere assayでLiCl, VPA, CBZの3種類の気分安定薬を添加したところ、まさしく髄液中治療域濃度

* Seiji Hitoshi, MD, PhD: Associate Professor, Department of Neurobiology & Bioinformatics National Institute for Physiological Sciences, Okazaki

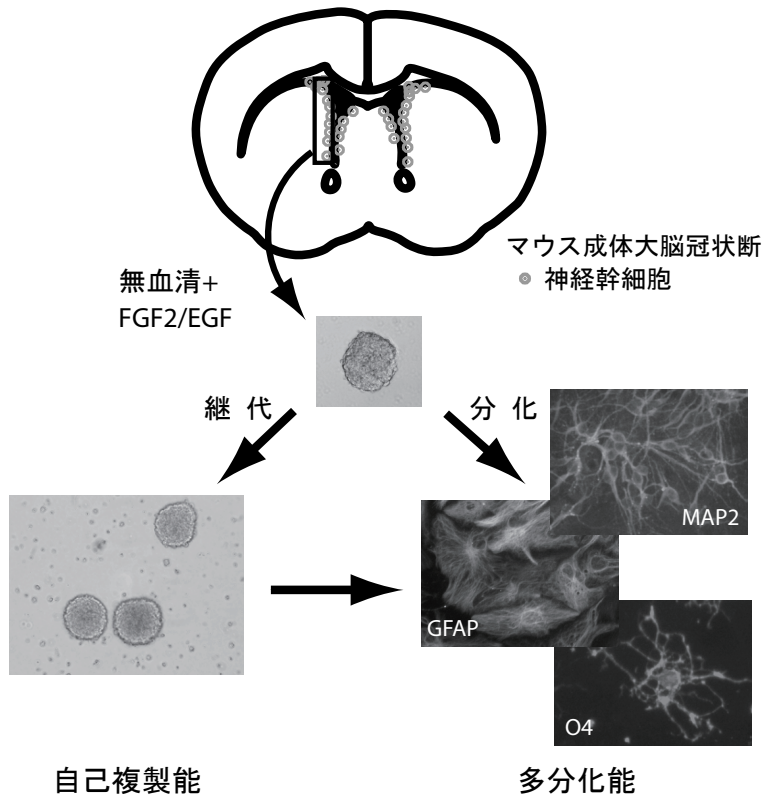


図 1 Neurosphere assay

Neurosphere assayの概略を示す。成体脳で神経幹細胞が存在する脳室下層の組織を採取、酵素消化によって細胞を分散し、FGF2/EGFを添加した無血清培地で培養すると、直径0.1–0.2 mmくらいの浮遊細胞塊が生じる。Neurosphereである。継代培養と分化アッセイによって、各々自己複製能と多分化能を検証できる。

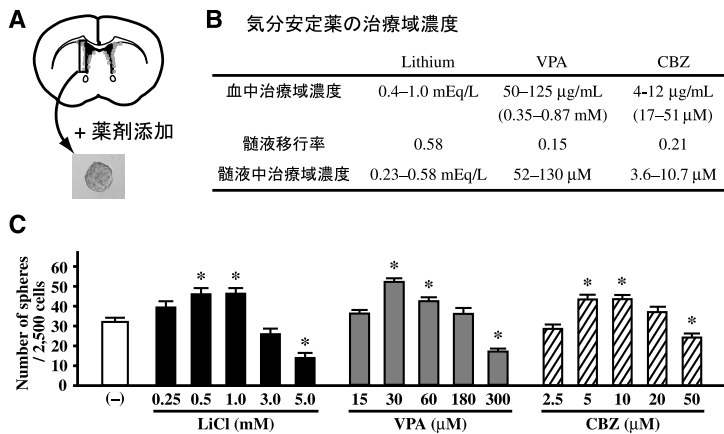


図 2 気分安定薬による Neurosphere の増加

A: Neurosphere assayの培地に様々な濃度の気分安定薬を加えて、Neurosphereの数を測定した。B: 3種類の気分安定薬の髄液中治療域濃度を示す。C: 気分安定薬添加によるNeurosphereの数を示す。髄液中治療域濃度では数が増加し、それより数倍高い濃度では減少した。*, $P < 0.05$ 。(文献5より一部改変)

Neurosphereの形成が増加した。一方、髄液中治療域濃度の数倍（VPAやCBZでは血中治療域濃度に近い）の気分安定薬を培地に添加すると、Neurosphereの形成がむしろ阻害された。この結果は、治療域を超える濃度での気分安定薬の毒性に関係しているのかもしれない。

3. 気分安定薬を投与したマウスにおける神経幹細胞数の増加

次に、*in vitro*で観察された気分安定薬の神経幹細胞に対する効果が、*in vivo*でも成り立つかどうかを調べるため、気分安定薬の長期投与モデルマウスを作製した。例えば、LiCl (3 g/L)を飲水に混ぜて投与した場合、血中Li⁺濃度は0.86 ± 0.23 mEq/L (mean ± SD)で、ほぼ双極性気分障害患者に用いられる濃度と同等であった。時間経過を追ってLiCl投与後の脳内神経幹細胞の数を計測したところ、徐々に増加して3週間後には有意な差となった (図3)⁵⁾。またこの時、脳室下層における神経前駆細胞や、嗅球における新生神経細胞の数も増加していた。薬物を投与して3週間後に有

意な神経幹細胞数の上昇が見られた今回の結果は、気分安定薬の治療効果が患者で得られるまでに数週を要するという臨床観察結果を説明できるものかもしれない。治療域Li⁺濃度であったマウスから培養されたprimary neurosphereは、より多くのsecondary neurosphere, tertiary neurosphereを産出したことから、このようなマウス脳内の神経幹細胞はより高い自己複製能を持っていたと考えられた。一方、高濃度のLiClを投与して、血中Li⁺濃度が4.36-6.59 mEq/Lと中毒域であったマウスでは、神経幹細胞の数が減少していた。

4. おわりに

本研究で見出された気分安定薬の神経幹細胞に対する効果は、① 髄液中の治療域濃度での、共通の薬理作用として初めてのものである ② 薬剤投与から臨床効果を得るまでに数週を要するという事実を説明し得る、という利点がある。神経幹細胞の自己複製能の亢進や、それに引き続く神経細胞新生の増強が、どのように気分の安定化に結びつくのかなど、解明すべき点は多く残されている

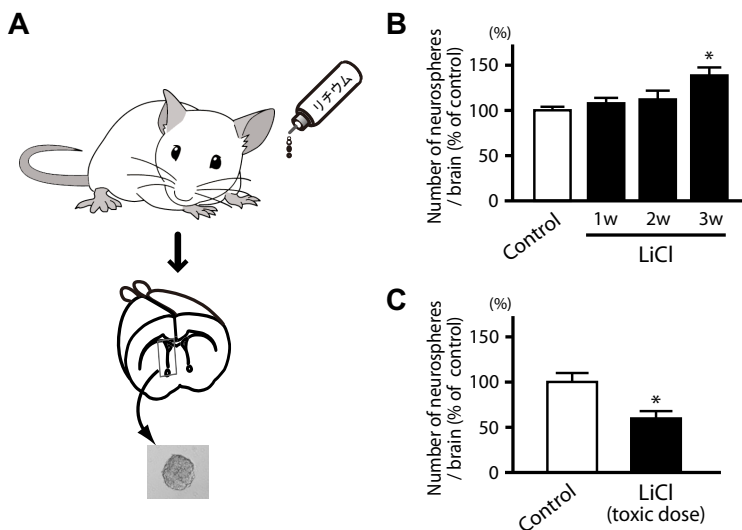


図3 気分安定薬による脳内の神経幹細胞数の増加

A: マウスに気分安定薬を3週間投与し、Neurosphere assayによって脳内の神経幹細胞の数を計測した。B: 血中リチウム濃度を治療域に保った場合、神経幹細胞数は数週かけて増加した。C: 血中リチウム濃度が中毒域になった時には、逆に神経幹細胞数は減少した。*, P < 0.05。(文献5より一部改変)

るものの、実験動物を用いた研究でもまだまだやるべきこと、やれることは多いと感じている。本研究を発展させることにより、双極性気分障害の病態解明や新たな気分安定薬の開発につながることを夢見ている。

文献

- 1) Kempermann, G., Kuhn, G. and Gage, F. H. (1997) More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. *Nature*, 386: 493–495.
- 2) Gould, E., McEwen, B. S., Tanapat, P., Galea, L. A. M. and Fuchs, E. (1997) Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult tree shrew is regulated by psychosocial stress and NMDA receptor activation. *J Neurosci*, 17: 2492–2498.
- 3) Santarelli, L., Saxe, M., Gross, C., Surget, A., Battaglia, F., Dulawa, S., Weisstaub, N., Lee, J., Duman, R., Arancio, O., Belzung, C. and Hen, R. (2003) Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants. *Science*, 301: 805–809.
- 4) Reynolds, B. A. and Weiss, S. (1992) Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the adult mammalian central nervous system. *Science*, 255: 1707–1710.
- 5) Higashi, M., Maruta, N., Bernstein, A., Ikenaka, K. and Hitoshi, S. (2008) Mood stabilizing drugs expand the neural stem cell pool in the adult brain through activation of Notch signaling. *Stem Cells*, 26: 1758–1767.

この論文は、平成20年7月5日(土)第17回近畿老年期痴呆研究会で発表された内容です。