

特集 2 新規治療標的としてのグリアの可能性

1. 電気けいれん療法の新規治療標的としてのグリア

橋岡 禎征*

抄録：近年の PET 研究によって大うつ病，統合失調症といった内因性精神疾患患者の生体脳において活性化グリアの存在が明らかとなり，主要な精神疾患におけるグリアの病態的関与が示唆されている。また大うつ病患者の死後脳において，アストロサイト終足による脳血管被覆率の低下，つまりグリア血管複合体の形成異常が報告されている。一方，薬物抵抗性の内因性精神疾患に対し有効性を示す電気けいれん療法 (electroconvulsive treatment; ECT) は，いわば実臨床における「最後の砦」，現在の生物学的精神科治療の「ポジティブコントロール」とも呼べる治療法であるが，その効果発現メカニズムは不明である。筆者らはこれまで抗うつ薬，抗精神病薬とも *in vitro* で活性化ミクログリアを抑制することを明らかにしてきたが，近年，活性化グリアと内因性精神疾患の症状に類似した異常行動を呈する Gunn ラットを用いて，ECT は治療効果発現の際，活性化ミクログリアに加え，活性化アストロサイトも抑制することを見いだした。また Gunn ラットの脳では活性化アストロサイトの終足による脳血管被覆率が低下しているが，ECT はその低下した脳血管被覆率を増加させることを明らかにした。以上より ECT は，活性化グリアの抑制，およびグリア血管複合体の形成異常の是正を介して治療効果を発揮している可能性が示唆され，グリアは薬剤抵抗性・難治性精神疾患における有望な新規治療標的になるとと思われる。

日本生物学的精神医学会誌 32 (1) : 26-32, 2020

Key words : electroconvulsive treatment, microglia, astrocyte, glial activation, aquaporin 4, endfoot, gliovascular unit, major depression, schizophrenia

はじめに

ミクログリアの活性化は，1987 年に McGeer らが世界で初めて抗 major histocompatibility complex class II 抗体による免疫組織化学的手法を用いてアルツハイマー病の死後脳で証明した病理学的所見である¹⁶⁾。彼らは，アルツハイマー病の病変部位ではミクログリアのみではなくアストロサイトも活性化していること^{14, 16)}，さらにはミクログリアとアストロサイトの活性化は，レビー小体病，多発性硬化症，筋萎縮性側索硬化症といった種々の神経変性疾患の病変部に共通して認められること^{14, 15)}を相次いで報告した。これら死後脳研究による免疫組織化学所見に加え，「抗炎症剤を常用しているリウマチ患者のアルツハイマー病有病率は，一般人口における有病率より有意に低い」という，やはり自らが 1990 年に見いだした疫学所見¹⁸⁾に基づき，McGeer ら

は「活性化グリアによる慢性炎症性プロセスが神経細胞死を引き起こす」という Neuroinflammation 仮説を提唱した。

近年，ミトコンドリア外膜にある translocator protein に特異的に結合する放射性リガンドを用いた positron emission tomography 画像技術の発展により，生体脳における活性化グリアの検出が可能となった。その結果，統合失調症，大うつ病といった内因性精神疾患患者の生体脳において，グリア細胞が活性化していることが 2000 年代以降，次々と明らかにされた^{5, 21)}。また上記精神疾患の死後脳研究においても，ミクログリア，アストロサイトとも活性化状態に特異的な形態変化が認められている^{3, 20, 24)}。これらの発見に伴い，従来，神経変性疾患において提唱されてきた Neuroinflammation 仮説は，内因性精神疾患に対しても外挿的に提唱されるようになった。

Glia as new promising targets for therapeutic actions of electroconvulsive treatment

* 島根大学医学部精神医学講座 (〒 693-0021 島根県出雲市塩冶町 89-1) Sadayuki Hashioka : Department of Psychiatry, Faculty of Medicine, Shimane University. 89-1, Enyacho, Izumo, Shimane 693-0021, Japan

【橋岡 禎征 E-mail : hashioka@med.shimane-u.ac.jp】

1. モノアミン仮説の限界と Neuroinflammation 仮説

ミクログリア, アストロサイトとも脳内で恒常性を保つ働きをしているが, 脳内に何か異常が起こると, それを察知して活性化する。活性化したグリアは形態的に変化する。ミクログリアは細胞体が肥厚し, 突起が短縮したアメボイドミクログリアと呼ばれる形態になり, アストロサイトは細胞体が肥厚し, 突起が延長する。このような形態的变化に加え, 活性化グリアは機能的にも変化し, TNF (tumor necrosis factor) α , interleukin (IL) -1β , IL-6 といった炎症性サイトカインや, superoxide anion, nitric oxide といったフリーラジカルを産生する⁸⁾。これらは炎症促進因子であると同時に, 潜在的な神経毒性因子でもあるため, 近傍にある神経細胞は死に至る, というのが本来の神経変性疾患における Neuroinflammation 仮説であった¹⁷⁾。精神疾患においては, 神経細胞は死には至らないまでも, 潜在的神経毒性因子によってダメージを受けて神経機能が障害されてしまう, あるいは, 活性化に伴いグリアの恒常性維持機能が失われ, 神経機能が障害される, さらには活性化グリアが神経機能を低下させる何か特異的な生理活性分子を分泌する, といった可能性が考えられる。

一方, 抗うつ薬, 抗精神病薬とも効果発現メカニズムとして, 従来, モノアミン仮説が主流であった。1950 年代, 偶然, 抗うつ作用を発揮することがわかったイミプラミンに, セロトニントランスポーターを阻害する薬理作用があることが解明され^{6, 9)}, 同じく 1950 年代, これも偶然, 抗精神病作用を発揮することがわかったクロルプロマジンにドーパミン受容体を遮断する薬理作用があることが解明された⁶⁾。これらの薬理作用から逆算的に, 大うつ病の病態メカニズムとしてセロトニン神経伝達の機能低下, 統合失調症の病態メカニズムとして, ドーパミン神経伝達の機能亢進が提唱されてきた。モノアミン仮説はシンプルで理解しやすいことも相まって, これまで広く受け入れられてきた。実際, これまで多くの抗うつ薬, 抗精神病薬の新薬開発は, モノアミン仮説を基に神経細胞を標的にして行われてきた。しかし, モノアミン仮説では説明がつかない, 臨床所見との矛盾も散見されている。最もよく知られているのは, これら向精神薬によるシナプス間隙におけるモノアミン濃度の変化は, 投与後数分内で起こるにもかかわらず, 統合失調症の症状が改善するには数日, 大うつ病の症状が改善するには 2,

3 週間かかる, というタイムラグである⁹⁾。このように内因性精神疾患における治療効果の発現メカニズムをモノアミン仮説のみで説明するには限界があるため, 筆者らは, 神経細胞以外の向精神薬の作用標的としてグリア細胞に着目した。

2. 向精神薬の活性化ミクログリアに対する効果

筆者らはまず抗うつ薬が, 活性化したミクログリアを抑制するかどうか検討した。*In vitro* で培養ミクログリアを IFN (interferon) γ で刺激し, ミクログリアが産生する IL-6, nitric oxide を活性化の指標として調べた。その結果, 三環系抗うつ薬イミプラミン, 選択的セロトニン再取り込み阻害薬フルボキサミン, 日本では発売されていない選択的ノルアドレナリン再取り込み阻害薬のレボキセチン, いずれもが IL-6, nitric oxide の産生を有意に抑制した⁷⁾。つまり抗うつ薬はそのカテゴリーを問わず, 活性化ミクログリアを機能的に抑制することが明らかになった。対照薬として, 躁病に用いられるリチウムについても調べた結果, リチウムは nitric oxide の産生は抑制したが, IL-6 の産生は増加させる傾向を示した⁷⁾。

次に抗精神病薬の活性化ミクログリアに対する効果についても検討した。その結果, 定型抗精神病薬のハロペリドール, 非定型抗精神病薬のリスペリドンとも, IFN- γ で活性化された培養ミクログリアによる IL-6, TNF- α , nitric oxide の産生を有意に抑制したが, 同濃度においてはリスペリドンのほうがその抑制効果が大きいことがわかった¹²⁾。また非定型抗精神病薬であるクエチアピン, ペロスピロンも, 共に TNF- α , nitric oxide の産生を有意に抑制した⁴⁾。このように抗うつ薬, 抗精神病薬とも, 共通して活性化ミクログリアを抑制することがわかり, 両剤の治療効果発現メカニズムとして, モノアミン神経伝達の調整以外にも, 活性化ミクログリアへの抑制作用が示唆された。

3. 電気けいれん療法の活性化グリアに対する効果

筆者らはさらに薬剤抵抗性, いわゆる難治性精神疾患に用いられ, いわば実臨床における「最後の砦」, 現在の生物学的精神科治療の「ポジティブコントロール」的存在ともいえる電気けいれん療法 (electroconvulsive treatment : ECT) が活性化グリアを抑制するかどうかを検討した。1938 年, 世界

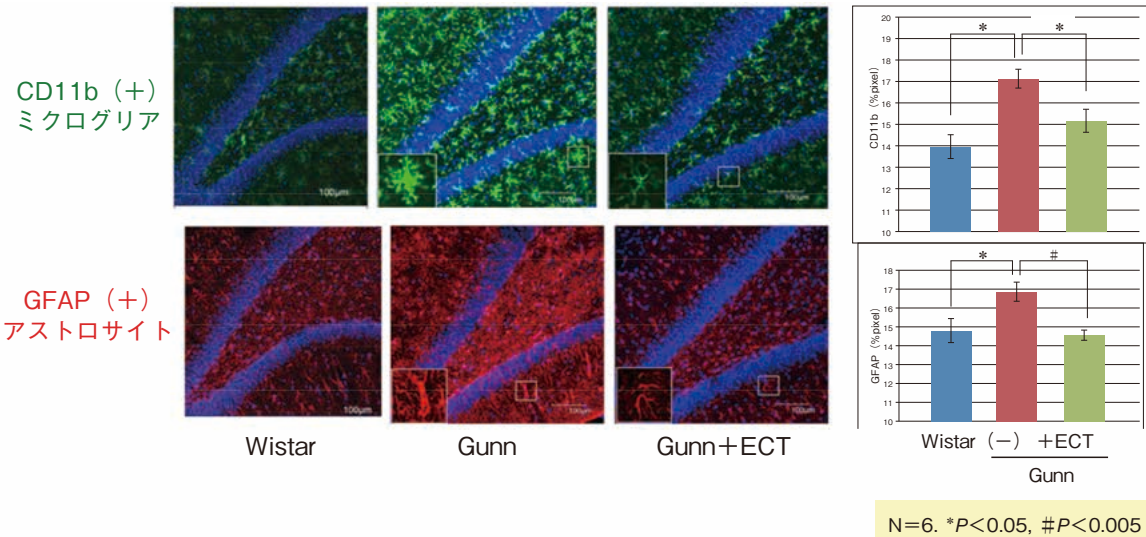


図1 ECTの活性化グリア抑制効果

ECTの効果発現に伴い、Gunnラット海馬における活性化マイクログリア、および活性化アストロサイトは共に有意に抑制された。(文献13より一部改変して転載)

で初めてイタリアのグループが統合失調症患者にECTを施行し、その治療効果が確認されたことから、ECTは現在に至るまで世界中で多くの患者に用いられており、安全性も確立されている^{22, 23)}。通常、週に2~3回の頻度で合計6~12回行われるが、全身麻酔下で筋弛緩薬を使用するため、施行できる施設が麻酔科のある総合病院や大学病院などに限られるという短所がある。約80年の歴史のあるECTであるが、その治療効果発現メカニズムは未だ解明されていない。

ECTの活性化グリアに対する効果を調べるにあたり、筆者らはGunnラットという病態ラットの生物学的特性に着目した。Gunnラットは、健常なWistarラットの突然変異種で、先天性の高ビリルビン血症を呈するため、核黄疸のモデル動物として用いられてきた。以前筆者らは、Gunnラットの海馬ではマイクログリア、アストロサイトとも先天的に活性化しており、さらに統合失調症様、大うつ病様の異常行動を呈することを報告した^{1, 13)}。具体的にはGunnラットの海馬ではマイクログリアマーカーのCD11b, Iba (Ionized calcium binding adapter molecule)-1, アストロサイトマーカーのGFAP (glial fibrillary acidic protein), S100B, いずれの免疫陽性面積が健常Wistarラットよりも有意に増加していた^{1, 13)}。また、プレパルス抑制試験においては、プレパルス抑制と呼ばれる音刺激に対する慣れは、GunnラットではWistarラットとの比較において、統合失調症患者と同様に有意に障害されていた¹³⁾。学習性無力を評価する強制水泳試験と尾懸垂試験に

おいては、大うつ病の絶望状態を反映しているといわれる無動時間が、GunnラットではWistarラットに比べ、有意に延長していた¹⁾。このように先天性のグリア活性化モデル動物であり、内因性精神疾患の症状モデル動物でもあるGunnラットは、グリアの観点からECTの治療効果発現メカニズムを調べるには、まさにうってつけの病態ラットといえる。

このGunnラットの耳朶に電極をあて、イソフルランの吸入麻酔をかけながら、6日間連続でECTを施行した。麻酔下で耳朶に電極は付けても通電はしなかったラットをsham群とした。ECTを施行した全個体で全身けいれん発作が誘発されること、そしてこのECT条件下では死に至る個体はないことを確認した。ECT施行後、行動試験を行い、マイクログリア (CD11b), アストロサイト (GFAP) の各グリアマーカーを用いて、海馬における定量的免疫組織化学解析を行った。その結果、ECTは、Gunnラットのプレパルス抑制障害を有意に改善し¹³⁾、強制水泳試験における無動時間を有意に短縮した²⁾。その際ECTは、Gunnラット海馬におけるCD11b, GFAPの各免疫陽性面積を有意に減少させる、つまり活性化マイクログリア、活性化アストロサイトを共に抑制する効果を発現した(図1)。またGunnラット海馬の拡大像では、マイクログリアはマクロファージ様のアメボイド形態、アストロサイトは肥厚した細胞体、という各グリアとも活性化状態に特異的な形態を呈していたが、ECTを施行するとマイクログリア、アストロサイトとも恒常性グリアの形態となっていた(図1)。以上よりECTの治療

前頭前野

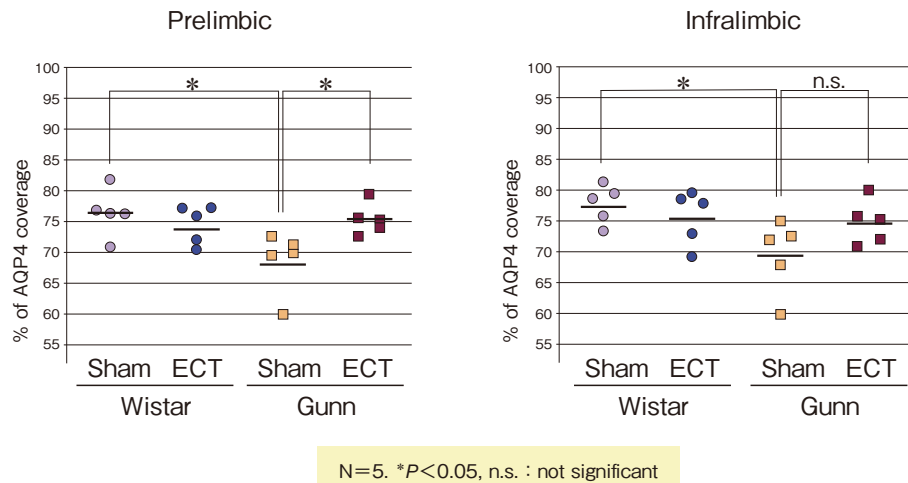


図2 前頭前野におけるECTのグリア血管複合体に対する効果
ECTの効果発現に伴い、Gunnラットの前頭前野prelimbic領域ではアストロサイト終足による脳血管被覆率低下が有意に回復した。(文献2より一部改変して転載)

効果は、活性化ミクログリアと活性化アストロサイトを抑制することによって発現している可能性が示唆された。

4. 電気けいれん療法の グリア血管複合体に対する効果

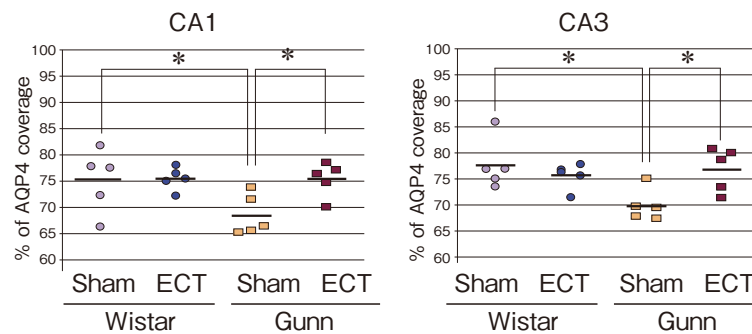
次に筆者らは、アストロサイトの活性化に伴うグリア血管複合体の形成障害に着目した。アストロサイトの終足には水チャンネルであるAQP (aquaporin) 4が多く発現・局在している。アストロサイトの終足は脳血管を覆い、タイトジャンクションで結合している血管内皮細胞やペリサイトとともに、グリア血管複合体を形成している。グリア血管複合体は血液脳関門の重要な機能を担っているが、脳内の異常によってアストロサイトが活性化すると、終足に局在していたAQP4のmislocalizationが起こり、グリア血管複合体の形成が障害される¹⁰⁾。また興味深いことに、大うつ病の死後脳研究では、大うつ病患者の前頭前野の灰白質で、AQP4免疫陽性のアストロサイト終足による脳血管の被覆率が、健常群に比べ有意に低下している、つまり大うつ病ではグリア血管複合体の形成異常が生じていることが報告されている¹⁹⁾。

そこでGunnラットにECTを施行し、ECTが大うつ病様行動の改善と共に、低下したアストロサイト終足による脳血管被覆率を回復させるかどうか検討した。うつ病様行動の評価には強制水泳試験に加

え、空間作業記憶を反映すると言われているY字迷路試験を用いた。アストロサイト終足による脳血管被覆率は、終足を抗AQP4抗体で、脳血管をレクチンで二重染色し、共局在面積をソフトウェア(キーエンスBZ-Xアナライザー[®])を用いて計測した。関心領域は、大うつ病との関連性が知られている前頭前野と海馬とした。さらに海馬におけるAQP4の発現と、タイトジャンクション分子であるClaudin-5の発現をウェスタンブロット法を用いて半定量化した。

前述の通りECTは、強制水泳試験におけるGunnラットの無動時間を有意に短縮した²⁾。Y字迷路試験ではGunnラットは自発的交替行動(spontaneous alternation behavior: SAB)が障害されていたが、ECTは、ほぼ健常Wistarラットと同じレベルまでSAB率を改善させた²⁾。以上のようにECTがGunnラットの大うつ病様行動を確実に改善することを確認した。次にAQP4免疫陽性のアストロサイト終足による脳血管被覆率を計測したところ、前頭前野prelimbic領域では、Gunn sham群はWistar sham群に比べ、有意に脳血管被覆率が低下していたが、ECTを施行すると、Wistar sham群と同じレベルまで脳血管被覆率が有意に増加した²⁾(図2)。前頭前野infralimbic領域でも、Gunn sham群はWistar sham群に比べ、有意に脳血管被覆率が低下していた。ECTを施行すると、脳血管被覆率は増加傾向を示したが、その効果は有意水準には達しなかった²⁾(図2)。海馬ではCA1領域、CA3領域とも、

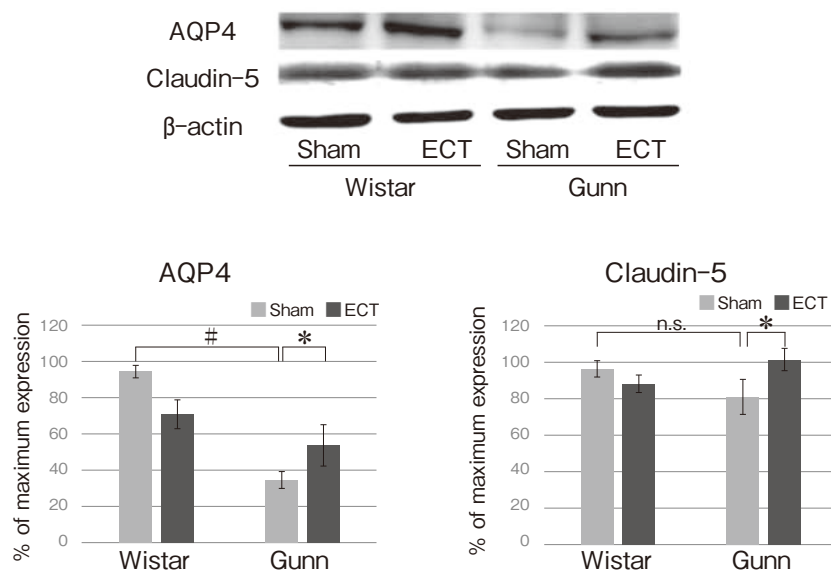
海馬



N=5. * $P < 0.05$, n.s.: not significant

図3 海馬におけるECTのグリア血管複合体に対する効果

ECTの効果発現に伴い、Gunnラットの海馬CA1・CA3領域ではアストロサイト終足による脳血管被覆率低下が有意に回復した。(文献2より一部改変して転載)



N=5. * $P < 0.05$, # $P < 0.001$, n.s.: not significant

図4 海馬におけるECTのAQP4・Claudin-5発現に対する効果

ECTの効果発現に伴い、Gunnラットの海馬領域では水チャンネルAQP4、およびタイトジャンクション分子Claudin-5の発現が有意に増加した。(文献2より一部改変して転載)

Gunn sham 群は Wistar sham 群に比べ、有意に脳血管被覆率が低下していたが、ECTを施行すると、Wistar sham 群と同じレベルまで脳血管被覆率が有意に増加した²⁾(図3)。また海馬におけるAQP4の発現は、Gunn sham 群は Wistar sham 群に比べ、有意に低下していたが、Gunn ECT 施行群はAQP4発現の有意な増加を示した²⁾(図4)。海馬におけるClaudin-5の発現は、Gunn sham 群と Wistar sham

群とで有意差はなかったが、Gunn ECT 施行群はClaudin-5発現の有意な増加を示した²⁾(図4)。

おわりに

図5にグリアの観点から推定されるECTの治療効果発現メカニズムを示す。ECTは治療効果発現とともに、活性化ミクログリア、および活性化アス

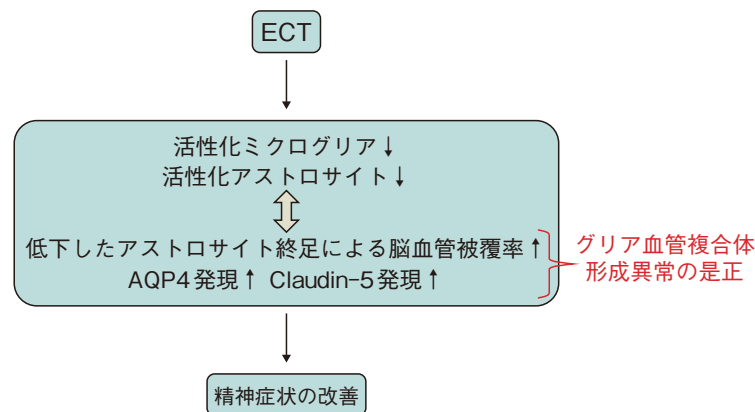


図5 グリアの観点から推定されるECTの治療効果発現メカニズム

トロサイトを抑制する。アストロサイトは活性化すると、終足による脳血管被覆率が低下し、グリア血管複合体の形成異常を呈する。しかしECTは終足による脳血管被覆率を増加させるうえ、AQP4の発現そのものや、タイトジャンクション分子Claudin-5の発現も増加させることによって、グリア血管複合体の形成異常を是正する。つまりECTは、活性化グリアの抑制、およびグリア血管複合体の形成異常の是正を介して治療効果を発揮している可能性が示唆されることから、グリアは薬剤抵抗性・難治性精神疾患における有望な新規治療標的になると思われる。

本論文に記載した筆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、開示すべき利益相反は存在しない。

文 献

- 1) Arauchi R, Hashioka S, Tsuchie K, et al (2018) Gunn rats with glial activation in the hippocampus show prolonged immobility time in the forced swimming test and tail suspension test. *Brain Behav*, 8 : e01028.
- 2) Azis I A, Hashioka S, Tsuchie K, et al (2019) Electroconvulsive shock restores the decreased coverage of brain blood vessels by astrocytic endfeet and ameliorates depressive-like behavior. *J Affect Disord*, 257 : 331-339.
- 3) Bayer TA, Buslei R, Havas L, et al (1999) Evidence for activation of microglia in patients with psychiatric illnesses. *Neurosci Lett*, 271 : 126-128.
- 4) Bian Q, Kato T, Monji A, et al (2008) The effect of atypical antipsychotics, perospirone, ziprasidone and quetiapine on microglial activation induced by interferon- γ . *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry*, 32 : 42-48.
- 5) Bloomfield PS, Selvaraj S, Veronese M, et al (2016) Microglial activity in people at ultra high risk of psychosis and in schizophrenia : An [(11) C] PBR28 PET Brain Imaging Study. *Am J Psychiatry*, 173 : 44-52.
- 6) Braslow JT and Marder SR (2019) History of psychopharmacology. *Annu Rev Clin Psychol*, 15 : 25-50.
- 7) Hashioka S, Klegeris A, Monji A, et al (2007) Antidepressants inhibit interferon-gamma-induced microglial production of IL-6 and nitric oxide. *Exp Neurol*, 206 : 33-42.
- 8) 橋岡禎征, McGeer PL, 宮岡 剛, 他 (2014) 精神神経疾患と活性化ミクログリアの多様性 : ミクログリアの活性化を抑制できれば, 精神神経疾患の根治的治療に応用できるか? *精神医学*, 56 : 1011-1017.
- 9) 橋岡禎征, 門司 晃, 加藤隆弘, 他 (2005) 抗うつ薬の作用機序. *総合臨牀*, 54 : 3011.
- 10) Iliff JJ and Nedergaard M (2013) Is there a cerebral lymphatic system? *Stroke*, 44 : S93-95.
- 11) Itagaki S, McGeer PL, Akiyama H, et al (1989) Relationship of microglia and astrocytes to amyloid deposits of Alzheimer disease. *J Neuroimmunol*, 24 : 173-182.
- 12) Kato T, Monji A, Hashioka S, et al (2007) Risperidone significantly inhibits interferon- γ -induced microglial activation in vitro. *Schizophr Res*, 92 : 108-115.
- 13) Limoa E, Hashioka S, Miyaoka T, et al (2016) Electroconvulsive shock attenuated microgliosis and astrogliosis in the hippocampus and ameliorated schizophrenia-like behavior of Gunn rat. *J Neuro-in-*

- flammation, 13 : 230.
- 14) McGeer PL, Itagaki S, Boyes BE, et al (1988) Reactive microglia are positive for HLA-DR in the substantia nigra of Parkinson's and Alzheimer's disease brains. *Neurology*, 38 : 1285-1291.
 - 15) McGeer PL, Itagaki S and McGeer EG (1988) Expression of the histocompatibility glycoprotein HLA-DR in neurological disease. *Acta Neuropathol*, 76 : 550-557.
 - 16) McGeer PL, Itagaki S, Tago H, et al (1987) Reactive microglia in patients with senile dementia of the Alzheimer type are positive for the histocompatibility glycoprotein HLA-DR. *Neurosci Lett*, 79 : 195-200.
 - 17) McGeer PL and McGeer EG (1995) The inflammatory response system of brain : implications for therapy of Alzheimer and other neurodegenerative diseases. *Brain Res Brain Res Rev*, 21 : 195-218.
 - 18) McGeer PL, McGeer E, Rogers J, et al (1990) Anti-inflammatory drugs and Alzheimer disease. *Lancet*, 335 : 1037.
 - 19) 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.
 - 20) Rao JS, Kim HW, Harry GJ, et al (2013) RETRACTED : Increased neuroinflammatory and arachidonic acid cascade markers, and reduced synaptic proteins, in the postmortem frontal cortex from schizophrenia patients. *Schizophr Res*, 147 : 24-31.
 - 21) Su L, Faluyi YO, Hong YT, et al (2016) Neuroinflammatory and morphological changes in late-life depression : the NIMROD study. *Br J Psychiatry*, 209 : 525-526.
 - 22) Takebayashi M (2010) The development of electroconvulsive therapy in Japan. *J ECT*, 26 : 14-15.
 - 23) Taylor S (2007) Electroconvulsive therapy : a review of history, patient selection, technique, and medication management. *South Med J*, 100 : 494-498.
 - 24) Torres-Platas SG, Hercher C, Davoli MA, et al (2011) Astrocytic hypertrophy in anterior cingulate white matter of depressed suicides. *Neuropsychopharmacology*, 36 : 2650-2658.

■ ABSTRACT

Glia as new promising targets for therapeutic actions of electroconvulsive treatment

Sadayuki Hashioka

Department of Psychiatry, Faculty of Medicine, Shimane University

Recent positron emission tomography studies have revealed glial activation in endogenous psychiatric disorders, such as schizophrenia and major depression, suggesting that the involvement of glial cells in the pathophysiology of these disorders. In fact, the decreased coverage of brain blood vessels by astrocytic endfeet has been identified in postmortem brains of major depression patients. Although electroconvulsive treatment (ECT) is regarded as an efficient treatment for refractory schizophrenia and major depression, its therapeutic mechanism is still unknown.

The author's group has already shown that antidepressants as well as antipsychotics inhibit microglial activation *in vitro*. Using pathognomonic rats called Gunn rats, which show congenital activation of microglia and astrocytes and exert both depressive-like and schizophrenia-like behavior, we have recently demonstrated that ECT attenuates activated astrocytic in addition to activated microglia with amelioration of their abnormal behavior. In addition, ECT has been demonstrated to significantly restore the decreased coverage of blood vessels by astrocytic endfeet in the hippocampus and prefrontal cortex of Gunn rats. These findings suggest that the therapeutic effects of ECT is exerted through the inhibition of activated microglia and astrocytes, and the restoration of impaired gliovascular units. Accordingly, glia can be considered as new promising targets for therapeutic actions of electroconvulsive treatment.