

1  
2  
3  
4  
5  
6 Our results corroborated the previous reports about antidepressant-like effect of dopamine  
7 agonists in the FST (Millan et al. 2004a; Basso et al. 2005) that has been considered as a useful test to  
8 measure the antidepressant-like properties of the substances (Porsolt et al. 1977). Basso et al. (2005)  
9 demonstrated that agonists for D<sub>2</sub>/D<sub>3</sub> dopamine receptors (quinpirole and PD128907), but not D<sub>4</sub> receptor  
10 (PD168077 and CP226269), reduced the immobility and induced the climbing behavior in the FST.  
11 Cabergoline has relatively high affinities to human D<sub>2</sub>/D<sub>3</sub> dopamine receptors (Millan et al. 2002);  
12 therefore its agonistic effect to these receptors may be attributable to the behavioral changes in the FST.  
13 In addition, chronic treatment with cabergoline reduced the latency of feeding in the novel environment  
14 that has been reported to be sensitive by the chronic antidepressant administration (Bondoff et al. 1989).  
15 To our knowledge, this is the first evidence that dopamine-agonist stimulates feeding behavior in the  
16 novel environment, although further studies are needed to elucidate its mechanism of action. Nevertheless,  
17 these results support the possibility that cabergoline has an antidepressant-like property.  
18  
19  
20  
21  
22  
23

24 Wistar-Kyoto rats displayed 2.5 times longer length of immobility in comparison with Wistar  
25 rats. In Wistar-Kyoto rats, the length of climbing behavior was increased, and that of immobility was  
26 tended to be attenuated by cabergoline, but not by fluvoxamine administration. These results are  
27 consistent with previous findings that fluoxetine (SSRI) as well as 8-OH-DPAT (5-HT<sub>1A</sub> agonist)  
28 were ineffective in Wistar-Kyoto rats (López-Rubalcava and Lucki 2000). Tejani-Butt et al. (2003)  
29 also showed that chronic treatment with nomifensine (a norepinephrine and dopamine reuptake  
30 inhibitor), but not with paroxetine (SSRI), reduced the immobility in FST. Interestingly, the  
31 expression level of D<sub>2</sub> receptor in Wistar-Kyoto rats is higher than Wistar in the ventral tegmental  
32 area where this receptor functions as an autoreceptor (Yaroslavsky et al. 2006). Swimming stress has  
33 been shown to enhance the metabolism of dopamine and 5-HT in the prefrontal cortex of  
34 Wistar-Kyoto, but not in Wistar rats (De La Garza II and Mahoney III 2004). These reports together  
35 with our study support the possibility that aberrant dopamine transmission and/or metabolism is  
36 involved in hyper-responsiveness to stress in Wistar-Kyoto rats, and that dopamine agonists  
37 including cabergoline are effective to this strain which is refractory to SSRI.  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45

46 Cabergoline at low doses demonstrated an anxiogenic effect slightly, but not significantly,  
47 while it showed a striking anxiolytic-like effect at 4 μmol/kg B.W. Other dopamine agonists such as  
48 ropinirole (Rogers et al. 2000), 7-OH-DPAT (Rogósz et al. 2004) and S32504 (Millan et al. 2004a) have  
49 been reported to demonstrate a dose-responsive anxiolytic-like property, suggesting that anxiolytic-like  
50 effect may somewhat differ between cabergoline and the other dopamine agonists. This may be  
51 attributable in part to the differential affinities for D<sub>2</sub> and D<sub>3</sub> receptors; cabergoline has similar affinities  
52 for the two receptors while the other dopamine agonists have relatively higher affinity for D<sub>3</sub> over D<sub>2</sub>  
53 receptors (Millan et al. 2002, 2004a). Especially, preferential D<sub>3</sub> receptor-agonist 7-OH-DPAT exerts its  
54 anxiolytic-like effect at lower doses than its optimum dose needed for antidepressant-like action (Rogósz  
55 et al. 2004). Therefore it is possible that the action through D<sub>3</sub> receptor may explain the differential  
56 anxiolytic-like effects between dopamine agonists. Importantly, the chronic treatment negated the  
57  
58  
59  
60

1  
2  
3  
4  
5  
6 difference in the optimum doses for anti-depressant and anxiolytic-like effects of cabergoline. Changes in  
7 the action of dopamine agonist after repeated administration were reported previously. The acute  
8 stimulation of D<sub>2</sub>-like receptor by quinpirole has a dose-dependent bi-phasic effect that reduces the  
9 locomotor activity in lower doses (Eilam and Szechtman 1989). Another D<sub>2</sub>-like agonist S32504 was also  
10 found to inhibit activities in a novel environment by a single administration (Millan et al. 2004b). On the  
11 other hand, repeated quinpirole treatment increases locomotor activity in a time-dependent manner  
12 (Szechtman et al. 1994; Rowlett et al. 1995). Our results are consistent with these observations. The  
13 time-dependent changes in the behavior might be mediated by down-regulation of D<sub>2</sub> autoreceptor by  
14 repeated treatment with its agonists as discussed by Szechtman et al (1994). Another possibility is  
15 synaptic neuroadaptation after dopamine transmission. Koeltzow et al (2003) reported that similarities in  
16 dopamine outflow in the nucleus accumbens between acute and chronic quinpirole administrations, and  
17 suggested the lack of necessity of subsensitized D<sub>2</sub> autoreceptor for behavioral activation after the chronic  
18 treatment. From the results of the current study, it is possible that this adaptation by chronic dopamine  
19 agonist treatment is mediated by up-regulated BDNF, an important molecule for the modulation of  
20 synaptic transmission as discussed below.

21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28 We found that repeated administration of cabergoline induced the up-regulation of BDNF and  
29 activation of ERK1 in the hippocampus. Many studies found the relationship between ERK, a  
30 downstream signaling via TrkB stimulated by BDNF, and the pathophysiology of depression. Dwivedi et  
31 al. (2001) reported the inactivation and reduced expression of ERK1/2 in the prefrontal cortex and  
32 hippocampus of post-mortem brains of individuals with depression. Such a reduced phosphorylation of  
33 ERK1/2 was observed in the prefrontal cortex and hippocampus of depression-model rats (Feng et al.  
34 2003; Qi et al. 2006). In contrast, inverse phenomena were confirmed in rats after chronic treatments with  
35 fluoxetine (Qi et al. 2008), imipramine (Fumagalli et al. 2005), and mood stabilizers (Einat et al. 2003).  
36 BDNF exerts its effects on cell survival (Hetman et al. 1999) and synaptic transmission (Ying et al. 2002)  
37 via ERK signaling. Recently, we found that BDNF enhances synaptic maturation via TrkB/ERK signaling  
38 and triggers release of glutamate, an excitatory neurotransmitter, *in vitro* (Kumamaru et al., 2008;  
39 Numakawa et al., 2009). Furthermore, we previously showed that antidepressants (imipramine and  
40 fluvoxamine) reinforced the BDNF-triggered glutamate release (Yagasaki et al., 2006). These findings  
41 together with the present results suggest that BDNF and ERK signaling are involved in the molecular basis  
42 of the action of antidepressants, including cabergoline, which can be attributable to synaptomodulation by  
43 BDNF.

44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
60 In conclusion, the present study suggests that cabergoline has antidepressant- and  
anxiolytic-like properties in both acute and chronic treatment regimen. Because BDNF signaling is  
involved in the action of antidepressants and modulates synaptic maturation and transmission, these  
actions of cabergoline may be mediated by the increased BDNF/ERK signaling. In addition, we found  
that cabergoline showed the trend for antidepressant-like action in an innate depression-model-rat strain

1  
2  
3  
4  
5  
6 of Wistar-Kyoto that is known to be refractory to SSRI treatments. These results suggest that cabergoline  
7 is a promising drug candidate for the treatment of patients with depression who are refractory to SSRI.  
8  
9

### 10 11 **Acknowledgments**

12  
13 This study was supported by the Health and Labor Sciences Research Grants (Research on Psychiatric  
14 and Neurological Diseases and Mental Health; Clinical Research for Development of Preventive  
15 Medicine and New Therapeutics) (H.K.), the JST, CREST (T.N., H.K), the Program for Promotion of  
16 Fundamental Studies in Health Sciences of the National Institute of Biomedical Innovation (NIBIO)  
17 (H.K.), and Grant-in-Aid for Scientific Research from the Japan Society for the Promotion of Science  
18 (JSPS) (H.K.). The authors declare no conflict of interest. The experiments comply with the current laws  
19 of Japan.  
20  
21  
22  
23  
24  
25

### 26 27 **References**

- 28  
29 Adachi N, Kunugi H (2008) Impaired secretion of brain-derived neurotrophic factor and neuropsychiatric  
30 diseases. *Open Neurosci J* 2:59-64  
31  
32 Angelucci F, Mathé AA, Aloe L (2000) Brain-derived neurotrophic factor and tyrosine kinase receptor  
33 TrkB in rat brain are significantly altered after haloperidol and risperidone administration. *J*  
34 *Neurosci Res* 60:783-794  
35  
36 Basso AM, Gallagher KB, Bratcher NA, Brioni JD, Moreland RB, Hsieh GC, Drescher K, Fox GB,  
37 Decker MW, Rueter LE (2005) Antidepressant-like effect of D(2/3) receptor-, but not D(4)  
38 receptor-activation in the rat forced swim test. *Neuropsychopharmacology* 30:1257-1268  
39  
40 Bodnoff SR, Suranyi-Cadotte B, Quirion R, Meaney MJ (1989) A comparison of the effects of diazepam  
41 versus several typical and atypical anti-depressant drugs in an animal model of anxiety.  
42 *Psychopharmacology (Berl)* 97:277-279  
43  
44 Castrén E, Vöikar V, Rantamäki T (2007) Role of neurotrophic factors in depression. *Curr Opin*  
45 *Pharmacol* 7:18-21  
46  
47 Chen B, Dowlatshahi D, MacQueen GM, Wang JF, Young LT (2001) Increased hippocampal BDNF  
48 immunoreactivity in subjects treated with antidepressant medication. *Biol Psychiatry* 50:260-265  
49  
50 Dawson NM, Hamid EH, Egan MF, Meredith GE (2001) Changes in the pattern of brain-derived  
51 neurotrophic factor immunoreactivity in the rat brain after acute and subchronic haloperidol  
52 treatment. *Synapse* 39:70-81  
53  
54 De La Garza R II, Mahoney JJ III (2004) A distinct neurochemical profile in WKY rats at baseline and in  
55 response to acute stress: implications for animal models of anxiety and depression. *Brain Res*  
56 1021:209-218  
57  
58  
59  
60

- 1  
2  
3  
4  
5  
6 Detke MJ, Rickels M, Lucki I (1995) Active behaviors in the rat forced swimming test differentially  
7 produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants. *Psychopharmacology (Berl)* 121:66-72  
8  
9 Du F, Li R, Huang Y, Li X, Le W (2005) Dopamine D3 receptor-preferring agonists induce neurotrophic  
10 effects on mesencephalic dopamine neurons. *Eur J Neurosci* 22:2422-2430  
11  
12 Duman RS, Monteggia LM (2006) A neurotrophic model for stress-related mood disorders. *Biol*  
13 *Psychiatry* 59:1116-1127  
14  
15 Dunham JS, Deakin JF, Miyajima F, Payton A, Toro CT (2009) Expression of hippocampal brain-derived  
16 neurotrophic factor and its receptors in Stanley consortium brains. *J Psychiatr Res*  
17 Doi:10.1016/j.jpsychires.2009.03.008  
18  
19 Dunlop BW, Nemeroff CB (2007) The role of dopamine in the pathophysiology of depression. *Arch Gen*  
20 *Psychiatry* 64:327-337  
21  
22 Dwivedi Y, Rizavi HS, Roberts RC, Conley RC, Tamminga CA, Pandey GN (2001) Reduced activation  
23 and expression of ERK1/2 MAP kinase in the post-mortem brain of depressed suicide subjects. *J*  
24 *Neurochem* 77:916-928  
25  
26 Eilam D, Szechtman H (1989) Biphasic effect of D-2 agonist quinpirole on locomotion and movements.  
27 *Eur J Pharmacol* 161:151-157  
28  
29 Einat H, Yuan P, Gould TD, Li J, Du J, Zhang L, Manji HK, Chen G (2003) The role of the extracellular  
30 signal-regulated kinase signaling pathway in mood modulation. *J Neurosci* 23:7311-7316  
31  
32 Feng P, Guan Z, Yang X, Fang J (2003) Impairments of ERK signal transduction in the brain in a rat  
33 model of depression induced by neonatal exposure of clomipramine. *Brain Res* 991:195-205  
34  
35 Fumagalli F, Molteni R, Calabrese F, Frasca A, Racagni G, Riva MA (2005) Chronic fluoxetine  
36 administration inhibits extracellular signal-regulated kinase 1/2 phosphorylation in rat brain. *J*  
37 *Neurochem* 93:1551-1560  
38  
39 Fumagalli F, Molteni R, Bedogni F, Gennarelli M, Perez J, Racagni G, Riva MA (2004) Quetiapine  
40 regulates FGF-2 and BDNF expression in the hippocampus of animals treated with MK-801.  
41 *Neuroreport* 15:2109-2112  
42  
43 Gambarana C, Scheggi S, Tagliamonte A, Tolu P, De Montis MG (2001) Animal models for the study of  
44 antidepressant activity. *Brain Res Brain Res Protoc* 7:11-20  
45  
46 Grønli J, Bramham C, Murison R, Kanhema T, Fiske E, Bjorvatn B, Ursin R, Portas CM (2006) Chronic  
47 mild stress inhibits BDNF protein expression and CREB activation in the dentate gyrus but not in  
48 the hippocampus proper. *Pharmacol Biochem Behav* 85:842-9  
49  
50 Hetman M, Kanning K, Cavanaugh JE, Xia Z (1999) Neuroprotection by brain-derived neurotrophic  
51 factor is mediated by extracellular signal-regulated kinase and phosphatidylinositol 3-kinase. *J Biol*  
52 *Chem* 274:22569-22580  
53  
54 Huang EJ, Reichardt LF (2001) Neurotrophins: roles in neuronal development and function. *Annu Rev*  
55 *Neurosci* 24:677-736  
56  
57 Inoue T, Tsuchiya K, Miura J, Sakakibara S, Denda K, Kasahara T, Koyama T (1996) Bromocriptine  
58 treatment of tricyclic and heterocyclic antidepressant-resistant depression. *Biol Psychiatry*  
59  
60

- 1  
2  
3  
4  
5  
6 40:151-153
- 7 Izumi T, Inoue T, Kitagawa N, Nishi N, Shimanaka S, Takahashi Y, Kusumi I, Odagaki Y, Denda K,  
8 Ohmori T, Koyama T (2000) Open pergolide treatment of tricyclic and heterocyclic  
9 antidepressant-resistant depression. *J Affect Disord* 61:127-132
- 10  
11 Kaplan DR, Miller FD (1997) Signal transduction by the neurotrophin receptors. *Curr Opin Cell Biol*  
12 9:213-221
- 13  
14 Keller MB (2005) Issues in treatment-resistant depression. *J Clin Psychiatry* 66 Suppl 8:5-12
- 15  
16 Koeltzow TE, Austin JD, Vezina P (2003) Behavioral sensitization to quinpirole is not associated with  
17 increased nucleus accumbens dopamine overflow. *Neuropharmacology* 44:102-110
- 18  
19 Kumamaru E, Numakawa T, Adachi N, Yagasaki Y, Izumi A, Niyaz M, Kudo M, Kunugi H (2008)  
20 Glucocorticoid prevents brain-derived neurotrophic factor-mediated maturation of synaptic function  
21 in developing hippocampal neurons through reduction in the activity of mitogen-activated protein  
22 kinase. *Mol Endocrinol* 22:546-558
- 23  
24  
25 Küppers E, Beyer C (2001) Dopamine regulates brain-derived neurotrophic factor (BDNF) expression in  
26 cultured embryonic mouse striatal cells. *Neuroreport* 12:1175-1179
- 27  
28 Lattanzi L, Dell'Osso L, Cassano P, Pini S, Rucci P, Houck PR, Gemignani A, Battistini G, Bassi A, Abelli  
29 M, Cassano GB (2002) Pramipexole in treatment-resistant depression: a 16-week naturalistic study.  
30 *Bipolar Disord* 4:307-314
- 31  
32 Leentjens AF, Koester J, Fruh B, Shephard DT, Barone P, Houben JJ (2009) The effect of pramipexole on  
33 mood and motivational symptoms in Parkinson's disease: a meta-analysis of placebo-controlled  
34 studies. *Clin Ther* 31:89-98
- 35  
36  
37 Lemke MR (2008) Depressive symptoms in Parkinson's disease. *Eur J Neurol* 15 Suppl 1:21-25
- 38  
39 Lemke MR, Brecht HM, Koester J, Kraus PH, Reichmann H (2005) Anhedonia, depression, and motor  
40 functioning in Parkinson's disease during treatment with pramipexole. *J Neuropsychiatry Clin*  
41 *Neurosci* 17:214-220
- 42  
43 Lemke MR, Brecht HM, Koester J, Reichmann H (2006) Effects of the dopamine agonist pramipexole on  
44 depression, anhedonia and motor functioning in Parkinson's disease. *J Neurol Sci* 248:266-270
- 45  
46 López-Rubalcava C, Lucki I (2000) Strain differences in the behavioral effects of antidepressant drugs in  
47 the rat forced swimming test. *Neuropsychopharmacology* 22:191-199
- 48  
49 Millan MJ, Maiorini L, Cussac D, Audinot V, Boutin JA, Newman-Tancredi A (2002) Differential actions  
50 of antiparkinson agents at multiple classes of monoaminergic receptor. I. A multivariate analysis of  
51 the binding profiles of 14 drugs at 21 native and cloned human receptor subtypes. *J Pharmacol Exp*  
52 *Ther* 303:791-804
- 53  
54 Millan MJ, Brocco M, Papp M, Serres F, La Rochelle CD, Sharp T, Peglion JL, Dekeyne A (2004a)  
55 S32504, a novel naphthoxazine agonist at dopamine D3/D2 receptors: III. Actions in models of  
56 potential antidepressive and anxiolytic activity in comparison with ropinirole. *J Pharmacol Exp*  
57 *Ther* 309:936-950
- 58  
59  
60

- 1  
2  
3  
4  
5  
6 Millan MJ, Seguin L, Gobert A, Cussac D, Brocco M (2004b) The role of dopamine D3 compared with  
7 D2 receptors in the control of locomotor activity: a combined behavioural and neurochemical  
8 analysis with novel, selective antagonists in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 174:341-357  
9
- 10 Miyagi M, Arai N, Taya F, Itoh F, Komatsu Y, Kojima M, Isaji M (1996) Effect of cabergoline, a  
11 long-acting dopamine D2 agonist, on reserpine-treated rodents. *Biol Pharm Bull* 19:1499-502  
12
- 13 Nibuya M, Morinobu S, Duman RS (1995) Regulation of BDNF and trkB mRNA in rat brain by chronic  
14 electroconvulsive seizure and antidepressant drug treatments. *J Neurosci* 15:7539-7547  
15
- 16 Numakawa T, Ishimoto T, Suzuki S, Numakawa Y, Adachi N, Matsumoto T, Yokomaku D, Koshimizu H,  
17 Fujimori KE, Hashimoto R, Taguchi T, Kunugi H (2004) Neuronal roles of the integrin-associated  
18 protein (IAP/CD47) in developing cortical neurons. *J Biol Chem* 279:43245-43253  
19
- 20 Numakawa T, Nakayama H, Suzuki S, Kubo T, Nara F, Numakawa Y, Yokomaku D, Araki T, Ishimoto  
21 T, Ogura A, Taguchi T (2003) Nerve growth factor-induced glutamate release is via p75 receptor,  
22 ceramide, and Ca(2+) from ryanodine receptor in developing cerebellar neurons. *J Biol Chem*  
23 278:41259-41269  
24
- 25 Numakawa T, Kumamaru E, Adachi N, Yagasaki Y, Izumi A, Kunugi H (2009) Glucocorticoid receptor  
26 interaction with TrkB promotes BDNF-triggered PLC-gamma signaling for glutamate release via a  
27 glutamate transporter. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106:647-652  
28
- 29 Ohta K, Kuno S, Mizuta I, Fujinami A, Matsui H, Ohta M (2003) Effects of dopamine agonists  
30 bromocriptine, pergolide, cabergoline, and SKF-38393 on GDNF, NGF, and BDNF synthesis in  
31 cultured mouse astrocytes. *Life Sci* 73:617-626  
32
- 33 Ohta K, Fujinami A, Kuno S, Sakakimoto A, Matsui H, Kawahara Y, Ohta M (2004) Cabergoline  
34 stimulates synthesis and secretion of nerve growth factor, brain-derived neurotrophic factor and  
35 glial cell line-derived neurotrophic factor by mouse astrocytes in primary culture. *Pharmacology*  
36 71:162-168  
37
- 38 Paré WP (1989) Stress ulcer susceptibility and depression in Wistar Kyoto (WKY) rats. *Physiol Behav*  
39 46:993-998  
40
- 41 Parikh V, Khan MM, Mahadik SP (2004) Olanzapine counteracts reduction of brain-derived neurotrophic  
42 factor and TrkB receptors in rat hippocampus produced by haloperidol. *Neurosci Lett* 356:135-139  
43
- 44 Porsolt RD, Le Pichon M, Jalfre M (1977) Depression: a new animal model sensitive to antidepressant  
45 treatments. *Nature* 266:730-732  
46
- 47 Poo MM (2001) Neurotrophins as synaptic modulators. *Nat Rev Neurosci* 2:24-32  
48
- 49 Qi X, Lin W, Li J, Pan Y, Wang W (2006) The depressive-like behaviors are correlated with decreased  
50 phosphorylation of mitogen-activated protein kinases in rat brain following chronic forced swim  
51 stress. *Behav Brain Res* 175:233-240  
52
- 53 Qi X, Lin W, Li J, Li H, Wang W, Wang D, Sun M (2008) Fluoxetine increases the activity of the  
54 ERK-CREB signal system and alleviates the depressive-like behavior in rats exposed to chronic  
55 forced swim stress. *Neurobiol Dis* 31:278-285  
56  
57  
58  
59  
60

- 1  
2  
3  
4  
5  
6 Rektorová I, Rektor I, Bares M, Dostál V, Ehler E, Fanfrdlová Z, Fiedler J, Klajblová H, Kulist'ák P,  
7 Ressler P, Svátová J, Urbánek K, Velísková J (2003) Pramipexole and pergolide in the treatment of  
8 depression in Parkinson's disease: a national multicentre prospective randomized study. *Eur J*  
9 *Neurol* 10:399-406
- 10  
11 Rogers DC, Costall B, Domeney AM, Gerrard PA, Greener M, Kelly ME, Hagan JJ, Hunter AJ (2000)  
12 Anxiolytic profile of ropinirole in the rat, mouse and common marmoset. *Psychopharmacology*  
13 (Berl) 151:91-97
- 14  
15 Rogóz Z, Skuza G, Kłodzińska A (2004) Anxiolytic- and antidepressant-like effects of 7-OH-DPAT,  
16 preferential dopamine D3 receptor agonist, in rats. *Pol J Pharmacol* 56:519-526
- 17  
18 Rowlett JK, Mattingly BA, Bardo MT (1995) Repeated quinpirole treatment: locomotor activity,  
19 dopamine synthesis, and effects of selective dopamine antagonists. *Synapse* 20:209-216
- 20  
21 Szechtman H, Talangbayan H, Canaran G, Dai H, Eilam D (1994) Dynamics of behavioral sensitization  
22 induced by the dopamine agonist quinpirole and a proposed central energy control mechanism.  
23 *Psychopharmacology (Berl)* 115:95-104
- 24  
25 Takahashi H, Yoshida K, Higuchi H, Shimizu T, Inoue T, Koyama T (2003) Addition of a dopamine  
26 agonist, cabergoline, to a serotonin-noradrenalin reuptake inhibitor, milnacipran as a therapeutic  
27 option in the treatment of refractory depression: two case reports. *Clin Neuropharmacol* 26:230-232
- 28  
29 Tejani-Butt S, Kluczynski J, Paré WP (2003) Strain-dependent modification of behavior following  
30 antidepressant treatment. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 27:7-14
- 31  
32 Yagasaki Y, Numakawa T, Kumamaru E, Hayashi T, Su TP, Kunugi H (2006) Chronic antidepressants  
33 potentiate via sigma-1 receptors the brain-derived neurotrophic factor-induced signaling for glutamate  
34 release. *J Biol Chem* 281:12941-12949
- 35  
36 Yamamoto M (2001) Depression in Parkinson's disease: its prevalence, diagnosis, and neurochemical  
37 background. *J Neurol* 248 Suppl 3:III5-11
- 38  
39 Yaroslavsky I, Colletti M, Jiao X, Tejani-Butt S (2006) Strain differences in the distribution of dopamine  
40 (DA-2 and DA-3) receptor sites in rat brain. *Life Sci* 79:772-776
- 41  
42 Ying SW, Futter M, Rosenblum K, Webber MJ, Hunt SP, Bliss TV, Bramham CR (2002) Brain-derived  
43 neurotrophic factor induces long-term potentiation in intact adult hippocampus: requirement for  
44 ERK activation coupled to CREB and upregulation of Arc synthesis. *J Neurosci* 22:1532-1540
- 45  
46  
47  
48  
49

### 50 Figure legends

51  
52  
53  
54 **Fig. 1** Effects of single administration of cabergoline observed in FST and NST (a) duration of climbing,  
55 swimming, and immobility in Wistar rats in FST (n =8), (b) latency of immobile posture in Wistar rats in  
56 FST, (c) duration of climbing, swimming, and immobility in Wistar and Wistar-Kyoto rats after  
57 cabergoline or fluvoxamine treatment in FST (n = 7-10), (d) latency of feeding of Wistar rats in NST (n =  
58 8). Columns and bars represent mean ± SEM. \**p*<0.05, #*p*<0.1 vs. vehicle.  
59  
60

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7 **Fig. 2** Effects of single administration of cabergoline of different doses observed in OFT (a) time course  
8 curves of distance traveled for rats receiving different doses of cabergoline (b) the number of rearing, (c)  
9 total distance traveled, (d) total number of rearing, (e) time spent in center, and (f)  
10 grooming. Symbols/columns and bars represent mean  $\pm$  SEM. n = 6 for each group. \* $p < 0.05$  vs.  
11 vehicle.  
12  
13  
14

15  
16 **Fig. 3** Effects of single administration of cabergoline observed in EPT (a) time spent in open arm,  
17 closed arm, and center in cabergoline-treated and vehicle-treated rats, (b) the number of entries into arms,  
18 (c) time course curves of distance, (d) time course curves of rearing, (e) the percentage of entries into  
19 open arms per total entries, (f) total distance traveled, (g) total number of rearing and (h) the time of  
20 grooming behavior. Symbols/columns and bars represent mean  $\pm$  SEM. n = 7-10 for each group.  
21 \* $p < 0.05$ , # $p < 0.1$  vs. vehicle.  
22  
23  
24  
25

26  
27 **Fig. 4** Effects of chronic (14 days) administration of cabergoline (0.5  $\mu\text{mol/kg}$  B.W.) observed in FST  
28 and NST (a) time in climbing, swimming, and immobility in cabergoline- and vehicle-treated rats in FST,  
29 (b) latency of the immobile behavior in FST, (c) latency of feeding in the NST. Columns and bars  
30 represent mean  $\pm$  SEM. n = 8 for each group. \* $p < 0.05$  vs. vehicle.  
31  
32  
33

34  
35 **Fig. 5** Effects of chronic administration of cabergoline observed in OFT (a) time course curve of  
36 distance traveled, (b) time course curve of the number of rearing, (c) total distance traveled, (d) total  
37 number of rearing, (e) time spent in center and (f) time of grooming. Symbols/columns and bars  
38 represent mean  $\pm$  SEM. n = 8 for each group. \* $p < 0.05$ , # $p < 0.1$  vs. vehicle.  
39  
40  
41

42  
43 **Fig. 6** Effects of chronic administration of cabergoline observed in EPT (a) time spent in each arm, (b)  
44 number of entries into each arm, (c) time course of distance traveled, (d) time course of the number of  
45 rearing, (e) the percentage of entries into open arms per total number of entries, (f) total distance traveled,  
46 (g) total number of rearing and (h) time of grooming. Symbols/columns and bars represent mean  $\pm$  SEM.  
47 n = 8 for each group. \* $p < 0.05$ , # $p < 0.1$  vs. vehicle.  
48  
49  
50

51  
52 **Fig. 7** Effects of chronic administration of cabergoline on the expression and activation of  
53 BDNF-related signals (a) representative blotting of BDNF (left), p75 (center) and TrkB (right), (b)  
54 densitometrically quantified values of BDNF and its receptors, (c) representative blotting of pERK1/2  
55 (left) and pAkt (right), (d) densitometrically quantified values of BDNF-related signals. Columns and  
56 bars represent mean  $\pm$  SEM. n = 6 for each group. \* $p < 0.05$ , # $p < 0.1$  vs. vehicle.  
57  
58  
59  
60



1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

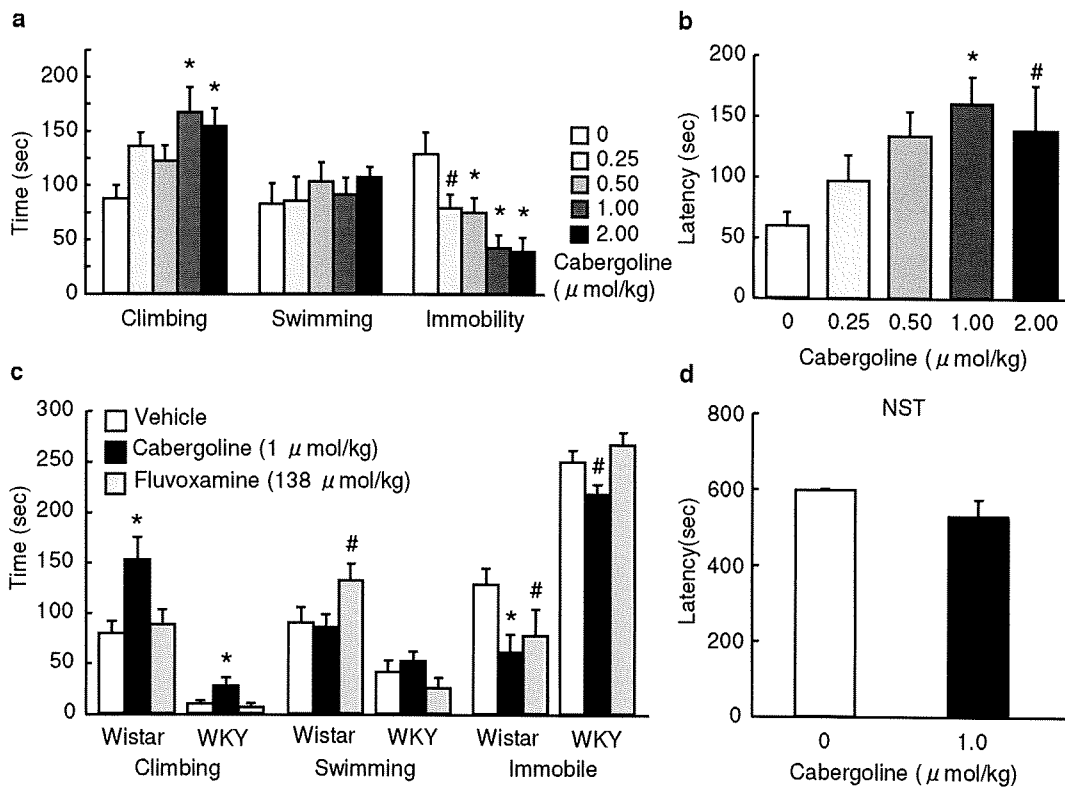


Figure 1. Chiba et al.

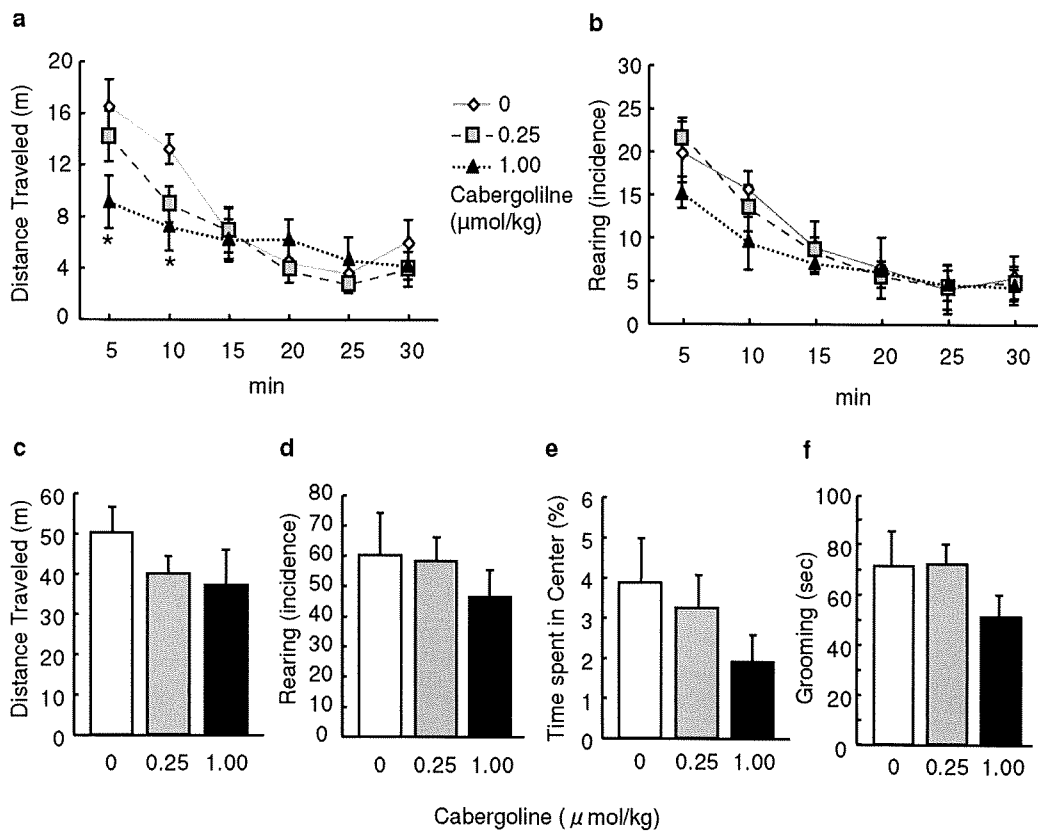


Figure 2. Chiba et al.

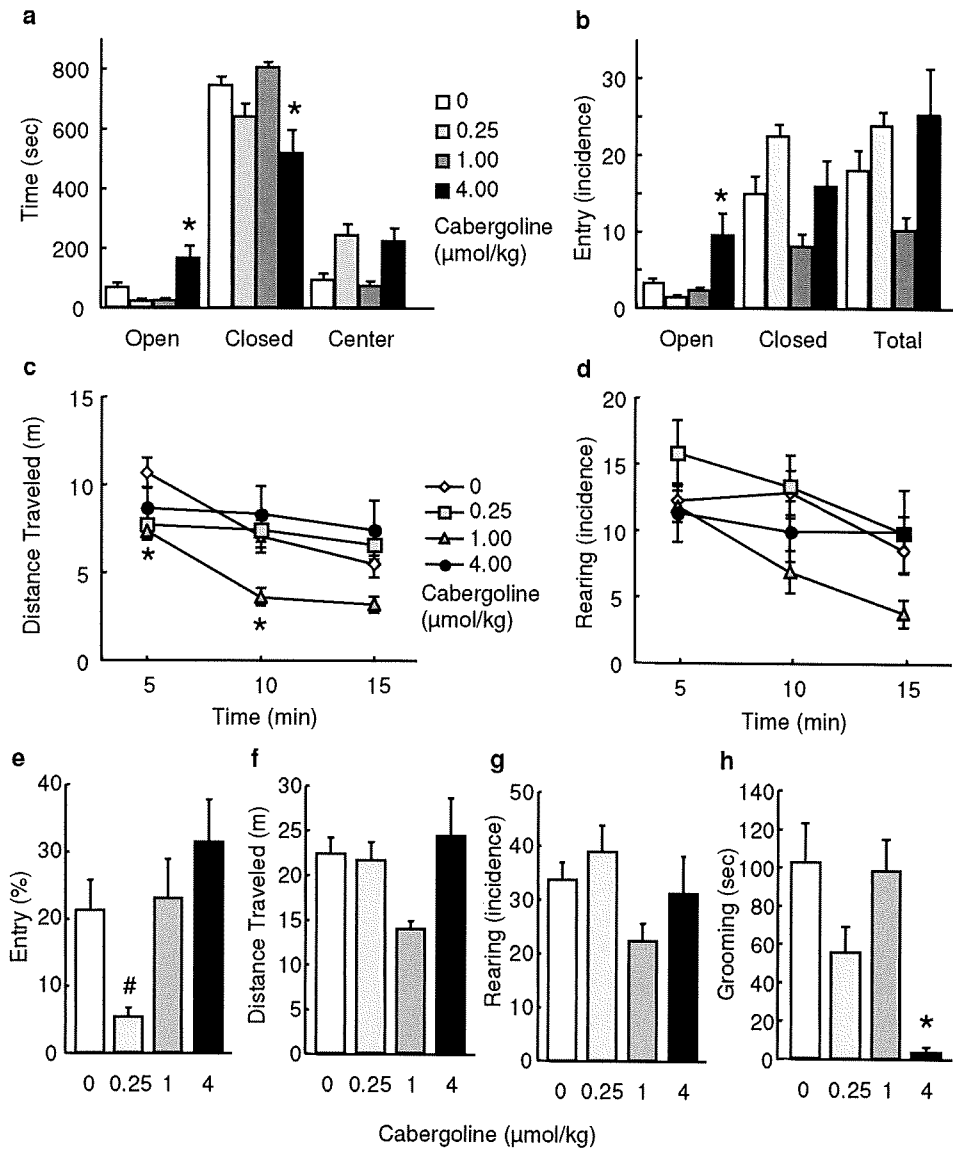


Figure 3. Chiba et al.

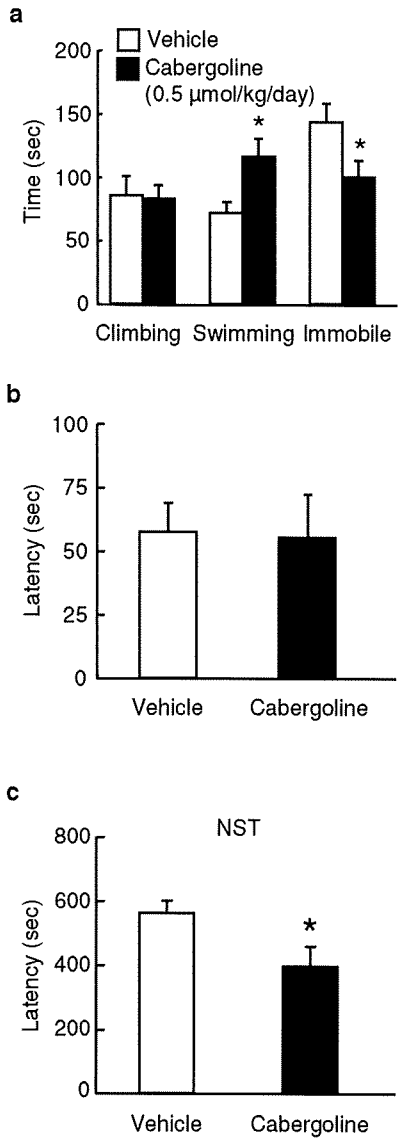


Figure 4. Chiba et al.

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

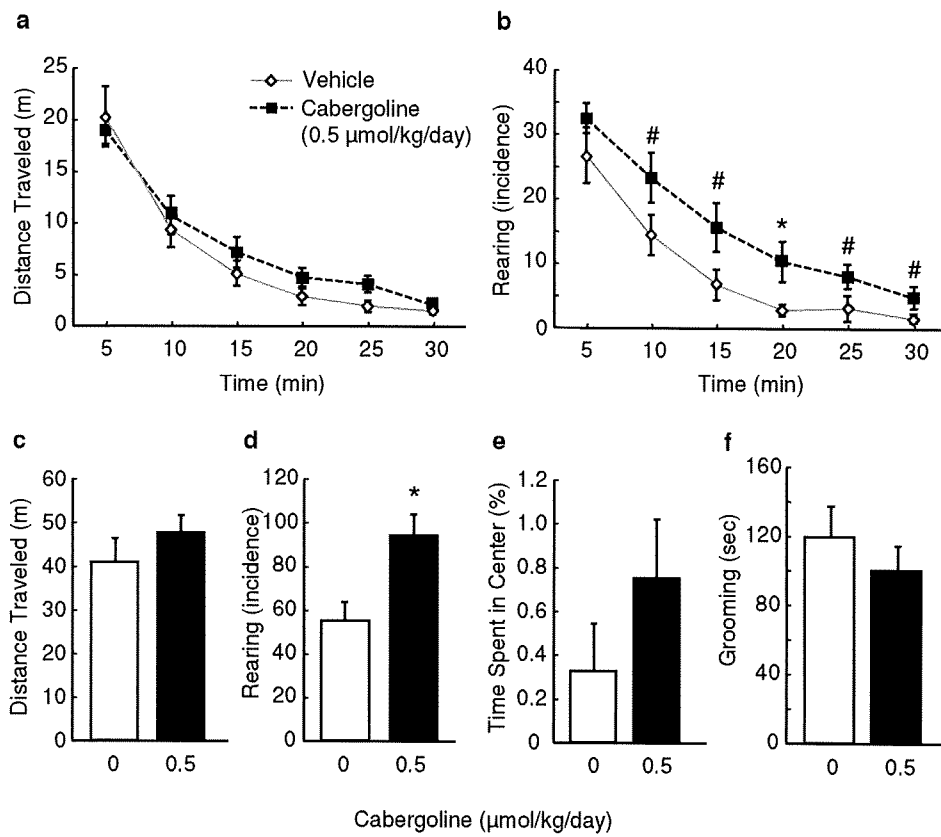


Figure 5. Chiba et al.

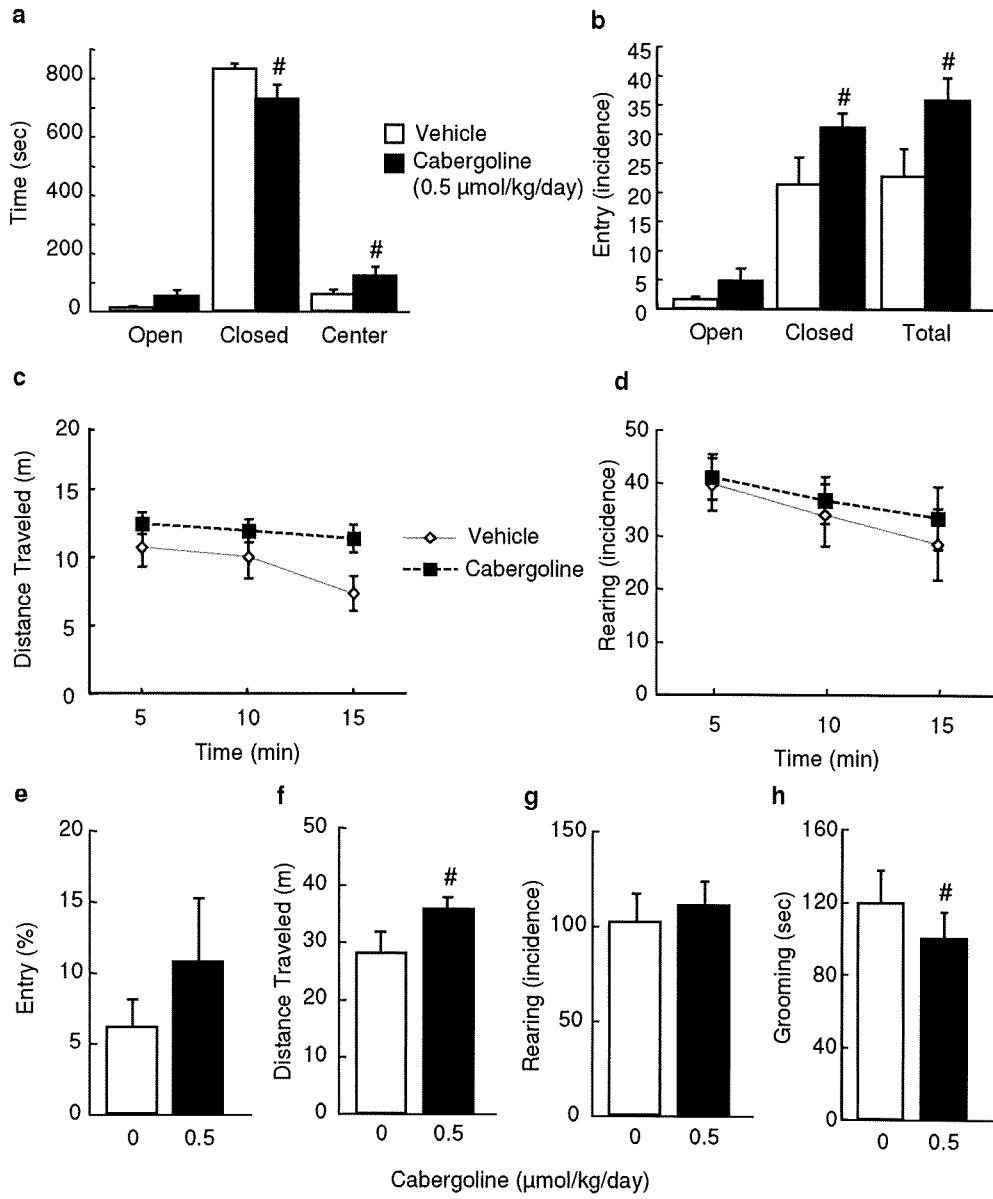


Figure 6. Chiba et al.

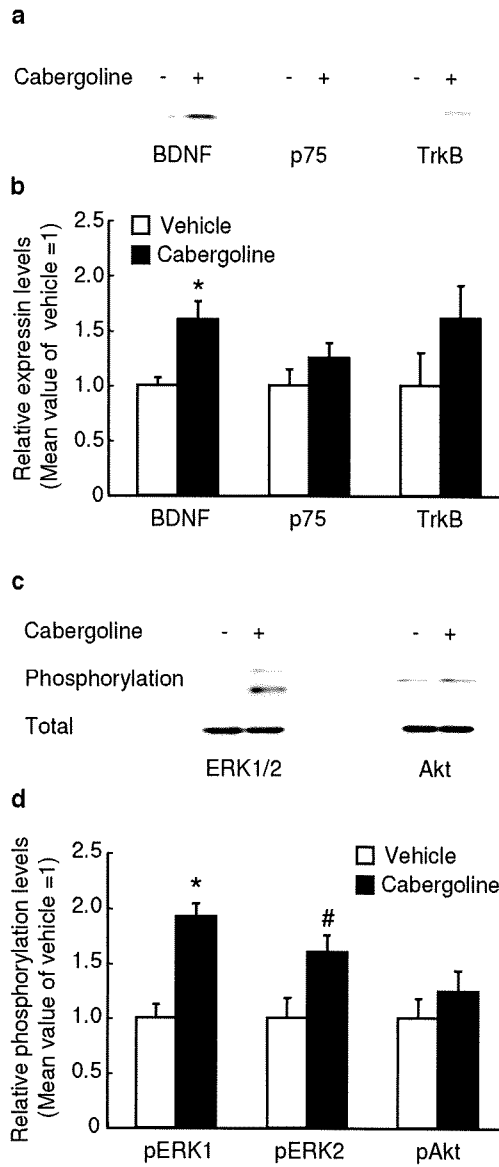


Figure 7. Chiba et al.

## うつ病のBDNF仮説

BDNF hypothesis in depression



功刀 浩

Hiroshi Kunugi

国立精神・神経医療研究センター神経研究所疾病研究第三部

◎近年、脳由来神経栄養因子(brain-derived neurotrophic factor: BDNF)は、種々の精神・神経疾患の病態生理や向精神薬の作用機序における鍵分子のひとつとして注目されている。うつ病に関連した所見としてストレスによる発現低下、患者死後脳での発現低下や血中濃度の低下、抗うつ薬や他の生物学的治療法による発現の上昇などに関する知見が蓄積されている。ストレスホルモンや抗うつ薬がそれぞれ BDNF の機能を低下/増強させることが示唆されている。BDNF 遺伝子多型が気分障害のリスクと関連するという報告も少なくない。BDNF はストレスによって惹起された脳の可塑的变化によるうつ病の病態発生と、抗うつ薬などによるうつ病治療の final common pathway として働いている可能性がある。



Key word: 脳由来神経栄養因子(BDNF)、ストレス、グルココルチコイド、抗うつ薬、海馬

BDNF は神経成長因子(nerve growth factor: NGF)やニューロトロフィン3, ニューロトロフィン4/5 などとともにニューロトロフィン・ファミリーに属する神経栄養因子のひとつである。これらの神経栄養因子は、中枢神経系の成長、分化、維持、可塑性などにおいて重要な役割を果たしている。図1に示すように、ニューロトロフィンはそれぞれが特異的な高親和性受容体(TrkA, TrkB, TrkC)をもつと同時に、すべてのニューロトロフィンに共通の低親和性受容体 p75 がある。興味深いことに、Trk 受容体はチロシンキナーゼ・ドメインをもち上記のような細胞栄養作用をもつが、p75 は腫瘍壊死因子スーパーファミリーに属し、death domain を所有し、アポトーシスなどにおいても重要な働きをなすとされる。さらに、ニューロトロフィンは前駆体蛋白(BDNF の場合は pro-BDNF)からプロセッシングを受けて成熟蛋白となるが、この前駆体蛋白は p75 に対する親和性が高い(図1)。つまり、BDNF はプロセッシングや受容体への親和性によって相反する作用をもたらす、いわば“諸刃の刃”である。

成体脳ではニューロトロフィンのうち BDNF

とその受容体 TrkB が強く発現しており、中枢神経系の生存維持や伝達機能にきわめて重要である<sup>1)</sup>。幼若なニューロンに対しては、分裂、分化、成熟、生存維持などに密接に関与し、ニューロン成熟後は、シナプス結合の可変的調整や神経伝達物質放出の増強、神経伝達物質受容体の感受性制御など多岐に及ぶ働きが確認されている。このように BDNF は、栄養因子的役割に加えて記憶・学習の基盤となるシナプス可塑性も制御する。BDNF が TrkB を活性化(リン酸化)すると、MAPK (mitogen-activated protein kinase), PI3 キナーゼ(phosphatidylinositol 3-kinase), PLC- $\gamma$ (ホスホリパーゼ C-gamma)経路などの細胞内シグナルが活性化される。

### ● BDNFとうつ病

BDNF がうつ病において重要な働きをしていることに関しては、ストレスを与えた動物モデルにおける発現変化、患者死後脳や血中濃度に関する所見、抗うつ薬や他の生物学的治療法による発現の変化など、種々の点からのエビデンスが集まっている。これについては文献<sup>2)</sup>によくまとめられてい



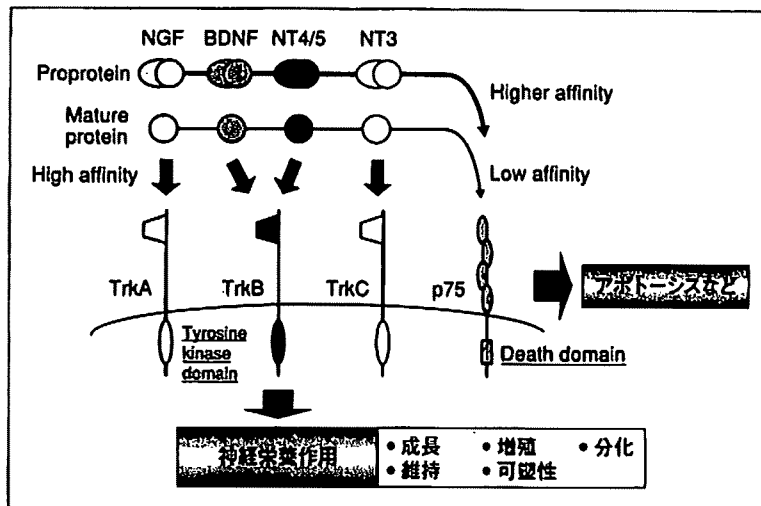


図 1 ニューロトロフィンと受容体

表 1 ストレスやグルココルチコイドによる海馬BDNFの発現低下

拘束(45分/1,7 days)	減少	Smith et al. 1995
拘束(45分)	減少	Nibuya et al. 1995 ; Vaidya et al. 1997
拘束(8時間)	減少	Ueyama et al. 1997
予測不能ストレス(10 days)	減少	Nibuya et al. 1999
四肢電気ショック(0.4 mA×4, 60分)	減少	Rasmussen et al. 2002
社会的孤立(6時間)	減少	Barrientos et al. 2003
社会的敗北(10分)	減少	Pizarro et al. 2004
母子分離(24時間, P9)	減少(adult)	Roceri et al. 2002
強制水泳(10分/day, 14 days)	減少	Roceri et al. 2004
拘束(6時間/day, 21 days)	効果なし	Kuroda and McEwen 1998
拘束(4時間/day, 3 days)	減少	Xu et al. 2004
コルチコステロン投与	減少	Barbany and Persson 1992
副腎髄質切除	上昇	Smith et al. 1995 ; Schaaf et al. 1998 Barbany and Persson 1992 ; Chao et al. 1998

(Duman and Monteggia, 2006)

る。

うつ病はストレスが誘因となることはよく知られているが、ストレスは海馬でのBDNFの発現を低下させることが多くの動物実験によって示されている(表1)。拘束ストレスなどの慢性的ストレス負荷のほか、母子分離などの早期の養育体験がBDNFの発現低下を介して成体になってうつ病様行動を引き起こすことが示唆されている。ストレスを受けると視床下部-下垂体-副腎系(hypothalamic-pituitary-adrenal axis: HPA系)の機能が亢進し、副腎皮質から分泌されるグルココルチコイド(ヒトではコルチゾール、齧歯類ではコルチコステロン)が増える。動物にコルチコステロンを投与するとBDNFの発現が低下し、副腎を摘除して

グルココルチコイドの産生を抑えるとBDNFの発現が上昇するという報告が多い。このような発現変化は海馬のみならず前頭葉皮質などでも報告されている。また、最近、拘束ストレスや社会的敗北ストレスがBDNFのヒストンアセチル化を介してその発現を制御しているといったエピジェネティックな関与も示唆されている<sup>3)</sup>。

うつ病で自殺した者の死後脳の海馬においてはBDNFの発現低下が一致して報告されており(表2-A)、血中BDNF濃度では未服薬のうつ病患者で低下しているが、抗うつ薬治療を受けているものでは上昇しているという報告が多い(表2-B)。最近のメタアナリシスでも、この結果は支持されている<sup>4)</sup>。なお、BDNFは血小板中に多く含まれ

表 2 うつ病における発現変化

(A) 死後脳

診 断	海馬での BDNF の発現	研 究
うつ病で自殺した患者	減少	Chen et al. 2001
うつ病で自殺した患者	減少	Dwivedi et al. 2003
うつ病で自殺した患者	減少	Krege et al. 2005

(B) 血中濃度

診 断	血中濃度	研 究
うつ病	減少	Karege et al. 2002
うつ病	減少	Shimizu et al. 2003
うつ病	減少	Karege et al. 2005
うつ病+抗うつ薬	上昇	Shimizu et al. 2005
うつ病+抗うつ薬	上昇	Gervasoni et al. 2005
うつ病+抗うつ薬	上昇	Aydemir et al. 2004

(Duman and Monteggia, 2006)

表 3 抗うつ薬の慢性投与による海馬におけるBDNF発現量の変化

電気ショック	上昇	Nibuya et al. 1995 ; Smith et al. 1997 ; Newton et al. 2003 ; Altar et al. 2003, 2004
MAOI (tranylcypromine)	上昇	Nibuya et al. 1995 ; Russo-Neustadt et al. 1999 ; Coppel et al. 2003 ; Dias et al. 2003 ; Garza et al. 2004
MAOI (tranylcypromine)	効果なし	Altar et al. 2003
SSRI (paroxetine, fluoxetine)	上昇	Nibuya et al. 1996 ; Coppel et al. 2003 ; De Foubert et al. 2004 ; Vinet et al. 2004
SSRI (sertraline)	上昇	Nibuya et al. 1995 ; Coppel et al. 2003
SSRI (citalopram)	上昇	Holoubek et al. 2004
SSRI (fluoxetine)	効果なし	Dias et al. 2003 ; Conti et al. 2002 ; Altar et al. 2003 ; Miro et al. 2002
NESRI (desipramine)	上昇	Nibuya et al. 1995 ; Dias et al. 2003 ; Vinet et al. 2004 ; Russo-Neustadt et al. 1999
NESRI (reboxetine)	上昇	Russo-Neustadt et al. 2004
NESRI (desipramine, maprotiline)	効果なし	Coppel et al. 2003 ; Altar et al. 2003
NE/SSRI (ventafaxine)	上昇	Xu et al. 2003
Tricyclic (imipramine, amitriptyline)	上昇	Van Hoomissen et al. 2003 ; Xu et al. 2003.
Atypical (mianserin)	上昇	Nibuya et al. 1995
Atypical (mianserin, tianeptine)	効果なし	Coppel et al. 2003 ; Kuroda and McEwen 1998
AMPAkines	上昇	Lauterborn et al. 2003
NMDA Antagonist (memantine)	上昇	Marvanova et al. 2001
経頭蓋磁気刺激	上昇	Muller et al. 2000
運動	上昇	Neeper et al. 1999, 2000, 2004 ; Russo-Neustadt et al. 1999, 2000, 2004

(Duman and Monteggia, 2006)

ていることもあり、血中濃度がどの程度脳内の BDNF 濃度を反映しているかについては、いまだ十分にはわかっていない。

抗うつ治療による BDNF の発現変化も多数研究されている(表 3)。。結果はかならずしも一致していないものの、種々の抗うつ薬は海馬の BDNF 発現を上昇させ、通電療法や経頭蓋磁気刺激、運動などによっても BDNF の発現が上昇することが報告されている。食事/栄養との関連では、ω-

3 多価不飽和脂肪酸を豊富に含んだ食事(魚油など)は大うつ病に有効であるとされるが、そうした食事は海馬の BDNF の発現を上昇させることが動物実験によって示唆されている<sup>5)</sup>。抗うつ薬による発現上昇に関してもヒストンアセチル化が関与するという報告がある<sup>6)</sup>。

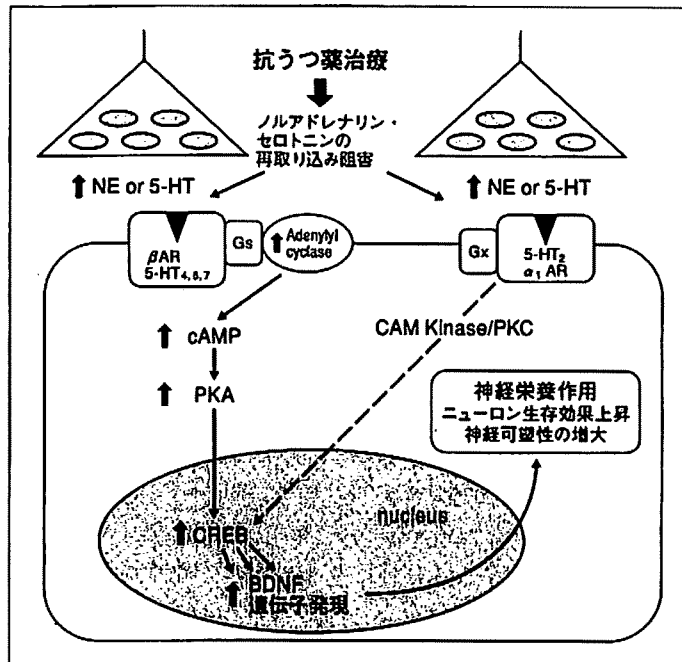


図 2 抗うつ薬治療によるBDNFの発現上昇と神経栄養作用(Duman, 2002)

## ● 抗うつ薬の作用の

### final common pathway

三環系抗うつ薬、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) などの抗うつ薬は、セロトニンやノルアドレナリンなどの神経伝達物質の再取り込みを阻害することによって、これらの物質をシナプス間隙(細胞外液)に増やす作用がある。モノアミン酸化酵素阻害薬は、モノアミンを代謝する酵素を阻害することによってモノアミン量を増やす。こうしたモノアミンを増やす作用が抗うつ薬治療効果発現のメカニズムであるというのが“モノアミン仮説”である。しかし、モノアミンの上昇は抗うつ薬投与の数十分後に生じるにもかかわらず、うつ病がよくなるのは抗うつ薬を投与後2週間以上経てからであることが通常である。この点がモノアミン仮説の決定的な問題点である。

近年の研究によって、うつ病では前頭葉や海馬の体積減少があり、病理学的には細胞数、細胞密度、細胞の大きさ、樹状突起の長さや数の減少、スパインの数や形態の変化などが生じていること

を示唆する結果が蓄積されている<sup>7)</sup>。

また、近年、出生後も海馬の歯状回などにおいてニューロン新生が起こっていることがわかってきたが、ストレスはニューロン新生を減らし、抗うつ薬はそれを上昇させることが知られている。X線照射によってニューロン新生を抑制すると抗うつ薬の効果が出現しなくなるという報告もある。BDNFはニューロン新生を促進する作用があり、抗うつ薬によるニューロン新生作用に関与していると考えられる。

以上を包括的に説明するものとして、図2のようなスキーマが考えられている<sup>8)</sup>。つまり、抗うつ薬によって増えたセロトニンやノルアドレナリンは、Gプロテインやその下流シグナルを介して転写因子であるcAMP response element binding protein(CREB)を活性化し、CREBの標的遺伝子のひとつであるBDNFの発現が上昇する。BDNFの発現上昇によってニューロン新生や突起伸長・シナプス形成などが促進され、うつ病患者の脳(海馬など)の変化が修復されることによって、うつ病が回復するというスキーマである。通電療法や磁気刺激などでもBDNFの上昇があることから、BDNFは抗うつ薬治療のfinal common pathwayとして働く

可能性がある。これと軌を一にして、BDNFを脳内に投与すると抗うつ様効果を示すことがいくつかの動物実験で示されている。

### ● グルココルチコイドや抗うつ薬と BDNF機能

上述のように、グルココルチコイドはBDNFの発現を低下させることが示唆されているが、機能に影響を与える可能性に関する検討はほとんどない。そこで著者らの研究室では、合成グルココルチコイドのひとつであるデキサメタゾンのBDNF機能に対する影響を検討した。その結果、幼若期の海馬培養ニューロンにデキサメタゾンを投与すると、BDNFによって誘発される突起伸長作用やシナプス形成作用が抑制され、これはBDNF/TrkBの下流シグナルのうち、MAPK系の活性化の抑制によって生じることを示した<sup>9)</sup>。さらに、大脳皮質培養ニューロンで検討したところ、驚いたことに、グルココルチコイド受容体とTrkBは細胞表面で複合体を形成していることを見出した。ニューロンにBDNFを投与すると、PLC- $\gamma$ 経路の活性化を介してグルタミン酸を細胞外に放出する作用があるが、ニューロンの培地にデキサメタゾンを投与しておく、グルココルチコイド受容体がダウンレギュレートされ、BDNF/TrkBのシグナル(PLC- $\gamma$ 経路)の活性が低下し、それによってBDNF誘発性のグルタミン酸放出が抑制されることを明らかにした。グルココルチコイド受容体はこれまで転写因子として認識されていたが、膜蛋白であるTrkBとの相互作用を介してBDNFの働きを制御している、というまったく新しい機能が明らかになった<sup>10)</sup>。

また、抗うつ薬はBDNFの発現を増加させるという報告は多いが、BDNFの機能に変化を与える可能性についての検討もほとんどない。著者らの研究室では、抗うつ薬がBDNFの機能を増強させる作用をもつことを見出した。すなわち、抗うつ薬(imipramineやfluvoxamine)はグルココルチコイドとは反対に、PLC- $\gamma$ 経路の活性を高め、それによってBDNF誘発性のグルタミン酸放出を増加させることを明らかにした<sup>11)</sup>。

### ● BDNFの遺伝子多型と気分障害

BDNF遺伝子多型と気分障害との関連についても興味深い知見が少なくない。BDNFにはよく知られたいくつかの遺伝子多型があり、精神・神経疾患との関連研究が多数なされている。1つはアミノ酸置換(Val66Met)を伴う機能的遺伝子多型であり、Met型はVal型に比べて脱分極によって誘導されるBDNFの放出が低下することや、ニューロン内での分泌顆粒への移動が障害されていること、ヒトでMet型をもっている者はそうでない者とは比べて海馬の活性化が低下しており、エピソード記憶の成績が低いことなどが報告された<sup>12)</sup>。双極性障害との関連は著者らによる日本人の多施設研究やヨーロッパの多施設によって否定された。しかし、大うつ病との関連では最近のメタアナリシス(14研究による大うつ病患者2,812人とコントロール10,843人)によれば、男女別の解析を行ったところ、男性においてのみMetアリルやそのホモ接合体が有意な危険因子であるという結果を得ている(Metアリルのオッズ比1.27, 95%信頼区間1.10-1.47; Met/Met型のオッズ比1.67, 95%信頼区間1.19-2.36)<sup>13)</sup>。

もうひとつの多型は、翻訳領域を含むエクソンの5'上流にあるマイクロサテライト多型である。この多型は、当初、2塩基繰返し配列と報告されていたが、著者らの詳細な解析の結果、3種類の2塩基繰返し配列がタンデムにつながっており、欠失/挿入なども存在するきわめて複雑な多型であることが明らかになり、BDNF-linked complex polymorphic region(BDNF-LCPR)と命名した<sup>14)</sup>。さらに、対立遺伝子によって転写活性が異なる可能性が示唆され、低活性と関連する対立遺伝子は双極性障害のリスクを高めることを見出した。

さらに著者らはニューロトロフィンの共通の低親和性受容体p75のアミノ酸置換を伴う多型(Ser205Leu)を見出し、うつ病や自殺行動と関連することを報告した<sup>15)</sup>。

### ● うつ病の発病・治癒過程とBDNF

以上から、うつ病の病的過程と治癒過程のプロトタイプのひとつとして図3のようなモデルが成立すると考えられる。すなわち、慢性ストレスに