

令和 2 年 7 月 5 日現在

機関番号：37104

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K10197

研究課題名(和文)ドーパミンD1シグナルを抑制して薬物乱用を制御する治療法開発

研究課題名(英文)Development of therapeutic method to suppress drug abuse by suppressing dopamine D1 signal

研究代表者

上松 謙 (Uematsu, Ken)

久留米大学・医学部・非常勤講師

研究者番号：60441672

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本申請研究では、生理活性を持つ脂質、スフィンゴシン-1-リン酸(S1P)に着目して中枢神経作用を基礎実験にて解析を行った。本申請研究者らは、S1Pアナログ分子でS1P受容体作動薬、フィンゴリモド塩酸塩【FTY720】は蛋白レベルで蛋白リン酸化を指標とした解析を行い、マウス線条体中型有棘神経細胞でドーパミンD1シグナル情報伝達を抑制する作用を見出した。FTY720はこの薬理作用が、ドーパミン賦活作用による依存性違法薬物(アンフェタミン、コカイン等)に拮抗して、FTY720を前投与したマウス群は、コカイン投与に依る自発運動亢進が抑制されている結果が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

薬物乱用、薬物依存は大きな社会問題であり社会的損失である。しかし、薬物乱用者、薬物依存者への治療は、精神療法、自助グループへの参加が主体であり、特効薬的治療薬は存在しない。本研究で、既に市販されている多発性硬化症治療薬、フィンゴリモド塩酸塩【FTY720】が、薬物依存症治療に応用可能性を持つデータが基礎動物実験で得られた。

研究成果の概要(英文)：In this application study, we focused on the physiologically active lipid, sphingosine-1-phosphate (S1P), and analyzed the central nervous system action in basic researches. The present applicants analyzed the S1P analog molecule, the S1P receptor agonist, and fingolimod hydrochloride [FTY720], using protein phosphorylation as an index at the protein level, and demonstrated that dopamine D1 in medium striatal neurons of the mouse striatum. It was found that the effect of suppressing signal transduction is suppressed. This pharmacological action of FTY720 antagonized the addictive drugs (amphetamine, cocaine, etc.) due to the dopamine activating action, and the group of mice pre-administered with FTY720 was found to have suppressed locomotor hyperactivity due to cocaine administration.

研究分野：精神薬理学

キーワード：コカイン S1Pレセプター FTY720 ドーパミンD1シグナル

1. 研究開始当初の背景

本申請研究者は、生理活性を持つ脂質、スフィンゴシン-1-リン酸(S1P)に着目して、以前より研究を進めていた。S1Pは、細胞増殖・分化、炎症、免疫、神経機能などを調節する分子として知られている。S1P受容体に対する治療薬が開発され、S1P受容体を介する薬理作用の発展、展開が多方面で報告されていた。治療薬としては、フィンゴリモド塩酸塩【FTY720】が多発性硬化症治療薬として2011年本邦で承認、上市されている(商品名:イムセラ)。動物実験、培養細胞実験から、ハンチントン病の改善(Di Pardo, Amico et al. 2014)、アルツハイマー病(Takasugi, Sasaki et al. 2013)の改善が報告されている。このような研究開始当初の背景から、精神疾患、依存症治療に応用が可能ではないかと考えられる予備データが本申請研究者グループより見いだされていた。この予備データを基に、研究を遂行することに至った。

2. 研究の目的

本研究申請者は、精神保健指定医・日本精神神経学会認定専門医指導医で精神科診療や教育への従事と同時に、基礎研究室と共同で、精神疾患の薬理的、行動学的研究を行っている。過去も現在も、薬物乱用、薬物依存は大きな社会問題であり、精神医学的には、その治療法の開発が求められている。しかし、現在の治療は、精神療法、及び自助グループへの参加が主体であり、特効薬的治療薬は存在しない。薬物の渴望を緩和する、あるいは薬物を摂取した場合もその効果が減じられる治療薬が開発されれば、依存症治療に有用であると考えられた。

3. 研究の方法

本申請研究課題では、分子生物学、神経化学、行動薬理学の手法を用いて、脂質分子で精神疾患との関連性が考えられるS1Pの中樞神経作用の基礎研究として、そのアナログ分子であるフィンゴリモド塩酸塩【FTY720】を試薬として使用した。具体的には下記の方法で実験を行った。

(1) ドーパミン神経におけるS1P、FTY720による細胞情報伝達系の解析(*In vitro*)

マウス線条体のドーパミン作動性神経細胞で、ドーパミン作用に必須なリン酸化蛋白dopamine- and cAMP-regulated phosphoprotein of 32 KDa (DARPP-32)のリン酸化反応を、リン酸化を特異的に検出するリン酸化蛋白を用いて検討を行った。マウス脳スライスを使用し、スライスにS1PやFTY720を投与、反応時間後、直ちにドライアイス下で反応を停止させる。ウエスタンブロット法にて、DARPP-32リン酸化を特異的に認識する抗体を使用し、その反応を赤外蛍光ウエスタンブロットティング解析装置(Li-Cor社、Odyssey)にて定量することで細胞内情報伝達を評価を行った。

(2) 中樞神経刺激薬の反復投与、薬物依存モデルでのFTY720前投与による行動解析(*In vivo*)

コカイン急性投与マウスに FTY720 を前処置として腹腔内投与を行い、生理食塩水投与マウス群をコントロールとして自発運動を比較した実験を行った。自発運動は、赤外線を用いた行動解析装置を使用した。薬物依存モデルは、コカインやメタンフェタミンを5日間反復投与にて形成され、1-2週間の休薬期間を経て、少量の薬物を再投与することで、自発運動が過剰に惹起される逆耐性モデルを使用して、FTY720 前処置群とコントロール群と比較を行った。

(3) *In vivo* 実験で、線条体での S1P 受容体を介した作用発現と証明するために、S1P1 受容体を強発現させるため、S1P1 受容体をアデノ随伴ウイルスにパッケージを行い、マウス線条体に注入したマウスを用いて、研究の方法 (2) と同じく FTY720 の前投与後、コカインを投与して行動解析を行った。次に、S1P1 受容体 loxP コンディショナルマウスに、ドーパミン D1 遺伝子プロモーターに cre を付与した、S1P1 受容体遺伝子ウイルスベクターを、マウス線条体に注入したマウスを用いて、研究の方法 (2) と同じく FTY720 の前投与後、コカインを投与して行動解析を行った。

4. 研究の成果

本研究申請者は、S1P と FTY720 が、ドーパミン作動性神経細胞内のドーパミン情報伝達系を制御する実験データを得た。特に、FTY720 を前投与することで、コカインによる DARPP-32 リン酸化反応を抑制する結果が得られた。FTY720 をマウスに前投与することでコカイン急性投与後のマウス自発運動亢進作用を減弱させる行動解析実験データが得られた。この作用機序は、線条体ドーパミン D1 ニューロンに発現する S1P1 受容体に依る実験データが得られた。FTY720 は既に治療薬として承認されており、薬剤の適応拡大により、薬物依存症への応用が期待される点で研究成果が得られたと考えられる。今後、臨床での検証として治験での検証が今後の展望となる。

(引用文献)

Di Pardo, A., et al. (2014). "FTY720 (fingolimod) is a neuroprotective and disease-modifying agent in cellular and mouse models of Huntington disease." *Hum Mol Genet* **23**(9): 2251-2265.

Takasugi, N., et al. (2013). "FTY720/fingolimod, a sphingosine analogue, reduces amyloid-beta production in neurons." *PLoS One* **8**(5): e64050.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

| | |
|--|----------------------|
| 1. 著者名 上松 謙 | 4. 巻 62 |
| 2. 論文標題 プロテインキナーゼAは代謝型グルタミン酸受容体5を直接リン酸化修飾してその機能が制御される | 5. 発行年 2016年 |
| 3. 雑誌名 九州神経精神医学 | 6. 最初と最後の頁 96-102 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし | 査読の有無 無 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 3件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 Ken Uematsu, Takahide Shuto, Yoshihisa Syoji, Naohisa Uchimura, Akinori Nishi |
| 2. 発表標題 Fingolimod (FTY720) suppress cocaine-induced hyper locomotion, which attenuate striatal D1-type medium spiny neurons of PKA/DARPP-32 signaling. |
| 3. 学会等名 Society for Neuroscience 2018 (San Diego, CA) (国際学会) |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Ken Uematsu, Takahide Shuto, Naohisa Uchimura, Akinori Nishi |
| 2. 発表標題 Fingolimod attenuate cocaine induced locomotor activity by decreasing PKA/DARPP32 signaling in striatal D1-type medium spiny neurons. |
| 3. 学会等名 Neuro Science 2017 (Washington, DC) (国際学会) |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 上松 謙、花田 雄樹、首藤 隆秀、小路 純央、内村 直尚、西 昭徳 |
| 2. 発表標題 Fingolimod regulates PKA/DARPP-32 signaling in striatal medium spiny neurons via neuronal S1P receptor mechanisms (フィンゴリモドはスフィンゴシン - 1 - リン酸受容体を介して線条体中型有棘細胞のPKA/DARPP-32シグナル伝達を制御する) |
| 3. 学会等名 第39回日本神経科学大会 |
| 4. 発表年 2016年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Ken Uematsu, Takahide Shuto, Yoshihisa Syoji, Naohisa Uchimura, Akinori Nishi |
| 2. 発表標題 Sphingosine-1-phosphate (S1P) and fingolimod regulate PKA/DARPP-32 signaling in striatal medium spiny neurons via neuronal S1P receptor mechanisms. |
| 3. 学会等名 Society for Neuroscience 2016 (San Diego, CA) (国際学会) |
| 4. 発表年 2016年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 上松 謙、首藤 隆秀、小路 純央、内村 直尚、西 昭徳 |
| 2. 発表標題 Fingolimod attenuates cocaine-induced locomotor activities in vivo by decreasing PKA/DARPP-32 signaling in striatal D1-type medium spiny neurons. (フィンゴリモドは線条体のドーパミンD1タイプ線条体中型有棘神経細胞でPKA/DARPP-32シグナルを抑制してコカインによる過活動性を減弱させる) |
| 3. 学会等名 第90回日本薬理学会年会 |
| 4. 発表年 2017年 |

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

| | | |
|---------------------------|--------------|---------------|
| 産業財産権の名称 ドーパミン伝達の抑制剤 | 発明者 久留米大学 | 権利者 同左 |
| 産業財産権の種類、番号 特許、P246391 | 出願年 2019年 | 国内・外国の別 国内 |

〔取得〕 計0件

〔その他〕

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-------|---|---------------------------------|----|
| 研究分担者 | 西 昭徳 (Nishi Akinori) (50228144) | 久留米大学・医学部・教授 (37104) | |
| 研究分担者 | 首藤 隆秀 (Syuto Takahide) (70412541) | 久留米大学・医学部・講師 (37104) | |