

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 5 月 26 日現在

機関番号：12501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K19751

研究課題名(和文) プロテオミクス技術を用いた覚せい剤精神病の病態解明と新規治療法の開発

研究課題名(英文) Using proteomics technology to elucidate pathogenesis of stimulant psychosis and development of new therapy

研究代表者

任 乾 (Ren, Qian)

千葉大学・社会精神保健教育研究センター・特任助教

研究者番号：00774829

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：覚せい剤精神病では、現在世界で大きな社会問題になっているが、詳細なメカニズムはまだ不明であり、根本的な治療薬が無いのが現状である。本研究では、プロテオミクス解析(iTRAQ)を用い、覚せい剤を繰り返す投与したマウスの脳におけるタンパク質を網羅的に解析した。その結果は、可溶性エポキシド加水分解酵素(sEH)が覚せい剤精神病の発症に関与している可能性を強く示唆した。さらに、sEHの遺伝子組み換え動物やsEHの阻害剤を用い、自発運動量や条件づけ場所嗜好性試験などの行動実験を実施し、sEHが覚せい剤精神病の発症メカニズムに重要な役割を果たし、sEHの阻害剤の治療効果も確認した。

研究成果の概要(英文)：Stimulants psychosis is an extremely serious and growing problem worldwide. However, the precise mechanisms are remain unknown and the development of the pharmacotherapy is needed. In this study, Using proteomics analysis (iTRAQ), we comprehensively analyzed proteins in brains of mice treatment with stimulant. The result suggested that soluble epoxide hydrolase (sEH) is involved in the development of stimulant psychosis. Furthermore, using the sEH knockout mice and sEH inhibitor treated mice, we performed behavioral test, such as locomotion and conditioned placed preference(CPP) test. The results suggest that sEH may play a key role in pathogenesis of stimulants psychosis, and the sEH inhibitor could be potential therapeutic drug for stimulant psychosis.

研究分野：神経科学

キーワード：覚せい剤精神病

1. 研究開始当初の背景

覚せい剤などの違法薬物の乱用による、うつ病やフラッシュバックなどの離脱症状を引き起こす、覚せい剤精神病は、世界中で大きな社会問題になっている。しかし、これらの症状に対する根本的な治療薬がなく、新規治療法の開発が不可欠である。これまでに我々の研究から、脳由来神経栄養因子(Brain Derived Neurotrophic Factor: BDNF)とその受容体 Tropomyosin-related kinase B (TrkB)が、うつ病と薬物依存の病態及び治療メカニズムに深く関わっていることが判った(Ren Q, et al. 2013; 2014; 2015)。特に、覚せい剤を繰り返し投与した後に生じる離脱症状(うつ症状及び逆耐性)には、側坐核におけるBDNF-TrkBシグナルの亢進が関与しており、TrkBの拮抗薬が覚せい剤で誘発した行動異常を有意に抑制したことが判った(Ren Q, et al. 2015)。

2. 研究の目的

本研究の目的は、覚せい剤を繰り返し投与したマウスの脳を iTRAQ などのプロテオミクス技術を用いて覚せい剤精神病の病態に関わる新規タンパク質を同定し、行動実験や生化学実験方法を実施し、覚せい剤精神病の病態さらに解明し、新たな治療法を開発することである。

3. 研究の方法

まず、生理食塩水あるいは覚せい剤を1日3回、5日間繰り返し投与し、1週間断薬したマウスの脳の側坐核を採取し、iTRAQプロテオミクス技術で両群のマウスの脳におけるタンパク質発現量の変化を網羅的に解析する。

次に、iTRAQで解析した結果の中から、覚せい剤精神病に関わる新規分子ターゲットを同定し、覚せい剤を繰り返し投与したマウスの脳の各部位(前頭皮質、海馬、扁桃核、側坐核、腹側被蓋野など)における各タンパク質および遺伝子の発現量を調べ、再現性を確認する。

さらに、同定した新規タンパク質について、遺伝子改変動物及びアデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターなどの方法を用い、行動科学的評価、免疫組織化学的評価などを実施することにより、覚せい剤精神病の病態に関わっている新規ターゲットの役割を詳細的に調べ、覚せい剤精神病の新規治療薬を開発する。

4. 研究成果

本研究では、先に iTRAQ プロテオミクスの解析より、覚せい剤の繰り返し投与によってマウス側坐核で変化するタンパク質を幾つが発見した。詳細な解析をした結果より、可溶性エポキシド加水分解酵素(soluble epoxide hydrolase:sEH)が覚せい剤精神病やうつ病などの精神疾患の発症メカニズムに関与している可能性が示唆された。詳細な役

割を調べるために、次のような研究を行った。

まず、雄性 C57BL/6N マウスを用い、覚せい剤(3mg/kg)を単回投与する前に、sEHの阻害剤である

TPPU(N-[1-(1-oxopropyl)-4-piperidiny]-N'-[4-(trifluoromethoxy)phenyl]-urea : 1.0

mg/kg, 3.0 mg/kg と 10 mg/kg)を投与し、自発運動量装置 SCANET で覚せい剤の単回投与による行動異常に対する sEH 阻害剤

TPPUの予防効果を検討した。その結果より、TPPUの前投与は覚せい剤の単回投与で誘発

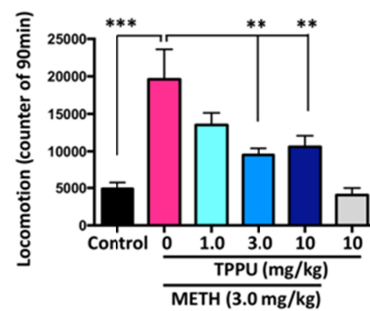


図 1

した自発運動量の上昇を用量依存的に抑制することが判った(図1)。

次に、雄性 C57BL/6N マウスに覚せい剤(3mg/kg/day)を1日1回5日間繰り返し投与する1時間前に sEH の阻害剤 TPPU を投与し、覚せい剤の最終投与1週間後により低濃度の覚せい剤(1mg/kg)を投与し、覚せい剤の慢性投与で誘発した逆耐性に対する TPPU の予防効果を検討した。その結果は、TPPU の

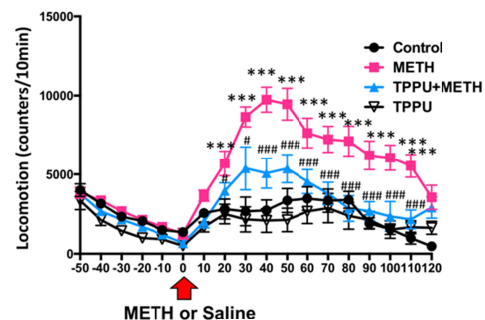


図 2

前投与が覚せい剤の繰り返し投与で誘発した逆耐性を有意に抑制することを示した(図2)。

また、条件付け場所嗜好性試験を用い、覚せい剤で誘発した行動異常における sEH 阻害剤 TPPU の効果も検討した。結果解析より、TPPU は覚せい剤の投与による薬物依存の形成を有意に抑制することが判った。

さらに、sEH の遺伝子欠損マウスを用い、

上記と同様に覚せい剤を投与した後に、自発運動量、逆耐性や条件付け場所嗜好性試験などの行動実験を実施し、sEH の遺伝子欠損マウスにおける覚せい剤の投与で誘発する行動異常を調べた。その結果は、sEH 遺伝子欠損マウスでは、覚せい剤の単回及び繰り返し投与で生じる行動異常を起さないことを示した。

以上の結果より、覚せい剤精神病の病態における可溶性エポキシド加水分解酵素 sEH が重要な役割を果たしていることが確認された。さらに、sEH の阻害剤 TPPU が覚せい剤精神病の新規治療薬として、可能性が有ることも示唆された。

現在、覚せい剤精神病の病態における sEH の詳細な作用メカニズムを調べるため、sEH のアデノ随伴ウイルスベクターなどを用い、覚せい剤の投与で誘発する行動異常を解析する共に、覚せい剤の繰り返し投与したマウスの脳における sEH に関連する遺伝子及びタンパク質を解析している。今後、全てのデータをまとめ、国際雑誌に論文投稿する予定である。

<引用文献>

Ren Q, Zhang JC, Fujia Y, Ma M, Wu J, Hashimoto K: Effects of TrkB agonist 7,8-dihydroxyflavone on sensory gating deficits in mice after administration of methamphetamine. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 106: 124-127, 2013.

Ren Q, Zhang JC, Ma M, Fujita Y, Wu J, Hashimoto K: 7,8-Dihydroxyflavone, a TrkB agonist, attenuates behavioral abnormalities and neurotoxicity in mice after administration of methamphetamine. *Psychopharmacology*, 231(1), 159-166, 2014.

Ren Q, Ma M, Yang C, Zhang JC, Yao W, Hashimoto K: BDNF-TrkB signaling in the nucleus accumbens shell of mice has key role in methamphetamine withdrawal symptoms. *Transl. Psychiatry* 5; e666, 2015.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計3件)

Ma Min, Ren Qian, Fujita Yuko, Yang Chun, Dong Chao, Ohgi Yuta, Futamura Takashi, Hashimoto Kenji. Alterations in amino acid levels in mouse brain regions after adjunctive treatment of brexpiprazole with fluoxetine: comparison with (R)-ketamine. *Psychopharmacology*, 234: 3165-3173, 2017. 査読有

Ren Qian, Ma Min, Hashimoto Kenji. Current status of substance abuse in East Asia and Its therapeutic prospects. *East Asian Arch. Psychiatry*, 26:45-51, 2016. 査読有

Ren Qian, Ma Min, Ishima Tamaki, Morrisseau Christophe, Yang Jun, Wagner Karen, Zhang Ji-chun, Yang Chun, Yao Wei, Dong Chao, Han Mei, Hammock Bruce, Hashimoto Kenji. Gene deficiency and pharmacological inhibition of soluble epoxide hydrolase confers resistance to repeated social defeat stress. *Pro. Natl. Acad. Sci. USA*, 113(13); E1944-52, 2016. 査読有

[学会発表](計4件)

Ren Qian, Ma Min, Fujita Yuko, Yang Chun, Dong Chao, Ohgi Yuta, Futamura Takashi, Hashimoto Kenji. Alterations in the amino acids in the mouse brain regions after adjunctive treatment of brexpiprazole with fluoxetine: Comparison with (R)-ketamine. Neuroscience 2017, 2017年11月11日～15日。

Ma Min, Ren Qian, Yang Chun, Zhang Ji-chun, Yao Wei, Dong Chao, Ohgi Yuta, Futamura Takashi, Hashimoto Kenji. Adjunctive treatment of brexpiprazole with fluoxetine shows a rapid antidepressant effect in social defeat stress model: Role of BDNF-TrkB signaling. Neuroscience 2017, 2017年11月11日～15日。

Ren Qian, Ma Min, Hashimoto Kenji. Gene deficiency and pharmacological inhibition of soluble epoxide hydrolase confers resilience to repeated social defeat stress: role of BDNF-TrkB signaling pathway. Neuroscience 2016- Society for Neuroscience, San Diego USA, 2016年11月12日～16日。

任乾。覚せい剤離脱症状における BDNF-TrkB シグナルの役割。第51回日本アルコール・アディクション医学会学術総会、タワーホール船堀・東京、2016年10月7日～8日。

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

名称:

発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

任 乾 (REN, Qian)
千葉大学・社会精神保健教育研究センター・特任助教
研究者番号：00774829

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()