

令和 2 年 9 月 2 日現在

機関番号：10105

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K08071

研究課題名(和文) 中脳黒質ドパミン神経の障害に起因する難治性認知症の発症機構の解明

研究課題名(英文) The onset mechanism of intractable cognitive impairment caused by selective loss of dopaminergic neurons in the substantia nigra pars compacta.

研究代表者

石井 利明 (Ishii, Toshiaki)

帯広畜産大学・畜産学部・教授

研究者番号：50264809

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：中脳黒質のDA神経細胞を特異的に破壊するMPTPをマウスの腹腔内に投与することでパーキンソン病(PD)のモデルマウス(PDマウス)を作出した。PDマウスは、海馬の歯状回のcAMP-PKAシグナルの減弱化に起因する活性型CREBの発現低下を引き起こし、controlマウスと比べ記憶の消去が亢進し記憶の保持能力が低下することを見つけ、PD患者に高頻度に併発する難治性の認知障害の発症機構を明らかにした。さらに、phosphodiesterase IV阻害薬のrolipramやセロトニン5-HT₄受容体の選択的作動薬のvelusetragとprucaloprideが当該認知症に有効であることを見つけた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

パーキンソン病(PD)患者に高頻度に併発する難治性の認知障害の発症機構を解明し創薬の手がかりを見出すことに成功した。具体的には、PDモデルマウス(PDマウス)で認められる記憶の保持能力が低下が、海馬の歯状回のcAMP-PKAシグナルの減弱化に起因する活性型CREBの発現低下によることを見つけ、PD患者に併発する難治性認知障害の発症機構を明らかにした。さらに、phosphodiesterase IV阻害薬rolipramやセロトニン5-HT₄受容体の選択的作動薬velusetragとprucaloprideがPDの認知障害に有効であることを発見・特許出願し、創薬の手がかりを見出すことに成功した。

研究成果の概要(英文)：We found that 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP)-induced Parkinson's disease (PD) model mice (PD mice) show facilitation of hippocampal memory extinction via reduced cyclic adenosine monophosphate (cAMP)/cAMP-dependent response element-binding protein (CREB) signaling, which may cause cognitive impairment in PD. Administration of rolipram, a phosphodiesterase IV (PDE IV) inhibitor, or prucalopride and velusetrag, serotonin 5-HT₄ receptor (5-HT₄R) agonists restore the facilitation of memory extinction in PD mice by stimulating the cAMP/CREB pathway in the hippocampus. These results suggest that a 5-HT₄R agonist and/or a PDE IV inhibitor could be potentially useful as a therapeutic drug for treating cognitive deficits in PD.

研究分野：脳神経科学

キーワード：パーキンソン病 認知障害 MPTP セロトニン5-HT₄受容体作動薬 Phosphodiesterase阻害薬 海馬歯状回 cAMP PKA

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

パーキンソン病(PD)は進行性の神経変性疾患の一つであり、わが国でも人口 10 万人に対し 100 人の発症が認められている。PD は中脳黒質のドーパミン(DA)神経細胞が変性し、これが投射する線条体領域の DA が不足することで、振戦・固縮・無動などの錐体外路症状を引き起こす。また、PD は運動症状以外にも精神症状や認知障害などの神経症状を併発することが多く、特に認知障害は PD 患者の約 40%に発症する。一旦、PD 患者に認知症が発症すると、障害された DA 神経の機能補償を目的とした PD 治療薬を処方しても、その症状に改善が認められない場合が多い。そのため、現在も PD に難治性の認知障害が併発するメカニズムは明らかにされておらず、発症機構の解明と新しい治療薬の開発が求められている。PD に難治性の認知障害が併発するメカニズムを解明出来れば、認知症の新しい治療薬開発のための標的分子を決めることが出来、同時に、黒質の DA 神経が記憶・学習に果たす役割を明らかに出来るので、脳神経生理学の分野においても重要である。

2. 研究の目的

本研究は PD モデルマウス(PD マウス)の中脳黒質 DA 神経細胞の変性が認知機能に及ぼす影響を解析することで、黒質 DA 神経が記憶・学習に果たす役割と PD 患者に高頻度に併発する難治性の認知障害の発症機構を解明し、創薬の手がかりを見出すことを目的とした。

3. 研究の方法

PD マウスの作製は中脳黒質の DA 神経細胞を特異的に破壊する 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP)をマウスの腹腔内に投与することで作出した。PD マウスの認知機能を調べる目的で、記憶の固定・再固定・消去のそれぞれの機能を、文脈的恐怖条件付けテストを用いて評価した。

4. 研究成果

[結論] 記憶の固定と再固定は PD マウスと control マウス間で差はなかったが、PD マウスの記憶の消去は control マウスと比べて顕著に亢進していることを見出し認知障害の発症機構を解明した(Life Sci. [2015]137:28-36、J. Pharmacol. Sci. [2017]134:55-58、特願 2017-0181721)。次に、PD マウスの記憶の保持能力を調べた結果、PD マウスの記憶の保持は control マウスと比べ低下した(Life Sci. [2015]137:28-36)。さらに、記憶の消去学習を誘導する際に機能する脳領域を特定するため、神経活性のマーカーである c-fos の発現を解析した結果、海馬・扁桃体・前頭前皮質の 3 つの脳領域が活性化するが、活性化の程度は PD マウスと control マウス間で差はなかった(未発表)。ところが、記憶形成に寄与する転写因子の 1 つとして知られている cAMP response element-binding protein(CREB)の活性化型リン酸化 CREB の発現量は、PD マウスの海馬歯状回でのみ control マウスと比べ有意な減少が認められた(J. Pharmacol. Sci. [2017]134:55-58)。さらに、PD マウスの海馬における cAMP 含量は、control マウスと比べ有意な減少が認められた(J. Pharmacol. Sci. [2017]134:55-58)。以上の結果から、PD マウスで認められた記憶の消去の亢進と記憶の保持能力の低下を引き起こす脳領域が海馬の歯状回であること、そして、当該脳領域の cAMP-PKA シグナルの減弱化が活性化型 CREB の発現低下を引き起こし、記憶の消去亢進へと導くことを明らかにした。

cAMP-PKA シグナルは脳神経細胞の可塑的变化を伴う記憶・学習時に働く重要な細胞内シグナルであることが報告されている。そこで、cAMP-PKA シグナルを活性化に導く cAMP 分解酵素 phosphodiesterase IV の阻害薬である rolipram、ならびに、海馬に豊富に発現し、Gs タンパクを介して cAMP 含量を上昇させるセロトニン 5-HT₄ 受容体の選択的作動薬の velusetrag ならびに prucalopride を PD マウスに投与した場合の記憶の消去に及ぼす作用を調べた。その結果、phosphodiesterase IV の阻害薬である rolipram を PD マウスに投与すると、亢進していた記憶の消去機能が control マウスのレベルにまで有意に回復すること(J. Pharmacol. Sci. [2017]134:55-58; 特願 2017-018172)、さらに、海馬に豊富に発現し、Gs タンパクを介して cAMP 含量を上昇させるセロトニン 5-HT₄ 受容体の選択的作動薬の velusetrag ならびに prucalopride を投与すると、PD マウスの亢進していた記憶の消去機能が control マウスのレベルにまで有意に回復すること(特願 2017-064344、Int. J. Mol. Sci. [2019] 20:5340)を明らかにした。以上の結果から、phosphodiesterase IV の阻害薬である rolipram やセロトニン 5-HT₄ 受容体の選択的作動薬の velusetrag ならびに prucalopride は、PD 患者に高頻度に併発する難治性の認知障害に有効であることを示唆した。また、逆行性トレーサー色素である fluorogold を正中縫線核に投与し当該領域に投射する神経回路を調べた結果から、PD マウスの黒質ドーパミン神経の障害は同黒質領域に存在する GABA 神経の機能低下を引き起こし、その結果 GABA 神経の投射先である縫線核のセロトニン神経と当該セロトニン神経の投射先である海馬神経(黒質-縫線核-海馬・神経回路)の機能低下が生じ、それが認知症発症の原因となる仮説を提唱することに成功した(Int. J. Mol. Sci. [2019] 20:5340)。

[研究発表]

(1) 学会誌

1. Kinoshita, K., Muroi, Y., Unno, T., & Ishii, T. (2017) Rolipram improves facilitation of

contextual fear extinction in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced mouse model of Parkinson's disease. *J. Pharmacol. Sci.* 134: 55-58.

2. Yashima, H., Matsushita, A., Kinoshita, K., Muroi, Y., & Ishii, T. (2019) Short-term but not long-term exercise ameliorates depressive behavior in mice. *Neuropsychiatry (London)* 9(1): 2120-2130.; 10.4172/Neuropsychiatry. 1000557

3. Ishii, T., Kinoshita, K., & Muroi, Y. (2019) Serotonin 5-HT₄ receptor agonists improve facilitation of contextual fear extinction in an MPTP-induced mouse model of Parkinson's Disease. *Int. J. Mol. Sci.* 20: 5340; doi:10.3390/ijms20215340

(2) 特許出願

1. 2017-018172: パーキンソン病に併発した認知障害の治療剤及びそのスクリーニング方法
2. 2017-064344: パーキンソン病に併発した認知障害の治療剤

(3) 学会発表

1. WCP2018 KYOTO: 18 th World congress of basic and clinical pharmacology; July 1-6, 2018, PO4-1-127: Reduced cAMP/CREB signaling in the dentate gyrus is involved in facilitation of fear extinction in the MPTP-induced mouse model of Parkinson's disease. Toshiaki Ishii
2. 第 92 回日本薬理学会年会 大阪/3/14-16/2019、 3-P-030: Short-term but not long-term exercise ameliorates chronic mild stress-induced depression-like behavior in a comparable manner to a single administration of ketamine in mice. Hiroki Yashima, Aya Matsushita, Ken-ichi Kinoshita, Yoshikage Muroi & Toshiaki Ishii
3. 第 93 回日本薬理学会年会 横浜/3/16-18/2020、 1-P-033: Serotonin 5-HT₄ receptor agonists improve facilitation of contextual fear extinction in an MPTP-induced mouse model of Parkinson's disease. Toshiaki Ishii & Yoshikage Muroi

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 3件）

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 パーキンソン病に併発した認知障害の治療剤	発明者 石井利明、木下健一	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、2017-064344	出願年 2017年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 パーキンソン病に併発した認知障害の治療剤	発明者 石井利明、木下健一	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2017-064344	出願年 2017年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

石井利明のホームページ http://univ.obihiro.ac.jp/~yakuri141/ http://www.obihiro.ac.jp/~yakuri141/

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
---------------------------	-----------------------	----