

令和元年6月18日現在

機関番号：13201

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2017～2018

課題番号：17K19801

研究課題名（和文）薬物乱用防止を目指した薬物乱用患者とSHATI/NAT8Lの遺伝子関連解析

研究課題名（英文）Genomic analysis of Shati/Nat8l to protect use methamphetamine

研究代表者

新田 淳美（Nitta, Atsumi）

富山大学・大学院医学薬学研究部（薬学）・教授

研究者番号：20275093

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：新田らのグループで見出した薬物依存抑制遺伝子Shati/Nat8lは、薬物依存との関連が強く考えられている。本研究では、世界的にも数少ない、覚醒剤乱用患者の遺伝子バンクを使用し、解析を行った。Shati/Nat8lの変異との関連は見いだされなかったが、Shati/Nat8lの発現を調節する遺伝子の部分で修飾が有意に減少をしていることが分かった。本萌芽的研究の成果をもととして、今後は、覚醒剤以外の乱用薬物との関連も調べ、薬物依存患者の診断や予防に繋がりたいと考えている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

覚醒剤乱用は大きな社会問題であり、犯罪であることに加え、健康被害も大きい。最近では、違法薬物乱用も疾病ととらえ、医療の対象であると考えられている。遺伝子の修飾の程度で、薬物依存治療の進行の度合いが分かれば、治療法開発に対して大きな意義となる。そこで、本研究では、世界的にもほとんどない覚醒剤乱用患者の遺伝子バンクを使用して、調べたところ、覚醒剤患者に特徴的な遺伝子変異は見出されなかったが、Shati/Nat8lの遺伝子の発現調節部位での修飾の程度に有意な変化があることを分かった。これらの研究成果は、覚醒剤乱用患者の治療の進行程度を推測する方法につながると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Methamphetamine abuse is a serious problem all over the world. We found that Shati/Nat8l protects addiction of methamphetamine. In this study, we investigated whether DNA mutation or modification of Shati/Nat8l in the patients with addiction. No differences of the genomic Shati/Nat8l in methamphetamine abuser. We found the change of DNA methylation in the CpG island, suggesting one possibility of new diagnosis methods for therapy for methamphetamine abusers. In near future, we attempt to check the methylation degree in the other substance abusers.

研究分野：医療系薬学

キーワード：SHATI/NAT8L DNAメチル化 覚醒剤乱用患者 バイサルトファイト法

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

芸能人や元スポーツ選手、あるいは社会的地位のある政治家や医師が覚醒剤や大麻を使用する薬物事犯が頻繁に報道され、薬物乱用に対する国民からの注目度は非常に高い。我が国では、戦後から今世紀初頭までの約50年間にわたり、覚醒剤が反社会勢力団体の資金源であったことから、「覚醒剤・大麻 = 悪 = さらに重要な犯罪につながる」と図式化され、国民も同様に受け止めている。現在では、政府関係機関の力強い政策のおかげで、反社会的勢力の多くは一掃されたが、覚醒剤・大麻の乱用問題は引き続き残っている。一方、薬物乱用は、精神疾患であるとの考え方、また、平成30年度には、覚醒剤を含む薬物依存患者への集団療法にも保険医療が適用されることになった。以上のような背景を鑑みると、薬物依存の早期診断法や治療の進行度を客観的に示すことができれば、防止や治療に大きな貢献があると考えられる。そこで、今までに誰も試みていなかった覚醒剤乱用患者の血液から採取したDNAをもとに薬物依存になりやすい人の診断ができる方法の確立を目指した。

2. 研究の目的

社会的地位のある政治家や医師が覚醒剤や大麻を使用する薬物事犯が頻繁に報道され、薬物乱用に対する国民からの注目度は非常に高い。我が国では、戦後から今世紀初頭までの約50年間にわたり、覚醒剤が反社会勢力団体の資金源であったことから、「覚醒剤・大麻 = 悪 = さらに重要な犯罪につながる」と図式化され、国民も同様に受け止めている。現在では、政府関係機関の力強い政策のおかげで、反社会的勢力の多くは一掃されたが、覚醒剤・大麻の乱用問題は引き続き残っている。我が国では、覚醒剤や大麻の使用は犯罪であり、対象者は、法律で裁かれるべきであることは当然であるが、10年前までと比べて、その対象者の範囲が急激に変化しているといえる。今までは、『覚醒剤・大麻 = 悪』で処理されてきた問題が、喫煙やアルコール依存と同様に、乱用薬物依存を疾病として捕らえ、予防・治療法の確立を目指すことが、我々、医療系研究者の責務となることが近い将来に予想される。今までにも、乱用者の多くで観察される遺伝子変異について報告されているが、それらの経過を予防に活用するには至っていない。乳癌においては、特定の遺伝子変異がある場合には、罹患リスクが有意に増加することが分かっている。特定のがんの治療と同様に乱用薬物依存になった人が特定遺伝子に変異があることが明確になれば、薬物乱用予防に対して新たな啓蒙活動につながる。その因果関係を明確にすることができれば、早期より薬物乱用防止への徹底した教育を施すことが可能となる。加えて、遺伝子は一生涯同じであるが、生後に遺伝子が修飾を受けることが最近の医学研究では、分かっている。そのため、遺伝子修飾に変化がある場合には、薬物乱用への要求度が高い状況であることが予測できる可能性がある。そこで、我々は、遺伝子変異と遺伝子修飾での両面から薬物乱用に陥る可能性の高いヒトを検出する方法を確立し、科学的で確実な薬物乱用防止政策につなげたいと考えている。我々は、覚醒剤メタンフェタミンを連続投与したマウスの脳で発現量が増加している分子として、Shati という分子を見出した。我々は、Shati をNCBI にも登録した(NCBI アクセスナンバー ABA54615)が、後に同じ分子がN-アセチルトランスフェラーゼ活性を持つことから、Nat8l (N-acetyltransferase8l)として登録され、現在はShati/Nat8l と表記している。Shati/Nat8l は、N-acetylasp A)やNAA-glutamate (NAA)の産生促進を介して覚醒剤をマウスに投与した時におこる異常行動や神経細胞膜上に存在するドパミントランスポーターの機能障害を抑制することを見出している。薬物依存のメカニズムにShati/Nat8l が関与し、薬物依存を抑制することを解明した我々の研究の意義は大きい。本分子が生合成経路に関与しているNAA やNAAは、脳に最も多く存在するアミノ酸であり、覚醒剤精神病の発症に関連している可能性も

ある。世界中で多くの研究者が色々な分子の生理機能の研究を行っているが、我々が取り組んでいるShati/Nat8l ほど、覚醒剤依存との関連が強いことが予想される分子は他にはない。そこで、Shati/Nat8l の遺伝子配列をもとに、依存症になりやすい人の遺伝子変異を明らかにする。また、覚醒剤依存者から得たDNA でのプロモーター部位の遺伝子修飾についての検討を行う。これらの事柄が、明確になれば、薬物乱用になりやすい人が明確になる。今までのように、薬物乱用教室で覚醒剤や大麻は、とにかくダメと教え、その後は各自の主体性(がんばりや根性論)に委ねる時代から、乱用者になりやすい人は手を出さないように、本人も周囲もより強くサポートすることが可能となり、治療だけでなく、予防としてもオーダーメイドな薬物乱用防止策を講じる手段になると考えられる。

3. 研究の方法

我々は、覚醒剤乱用者の治療にあっている精神科の医師や研究者とJapanese Genetics Initiative for Drug Abuse (JGIDA)という組織をつくっており、そのネットワークを活用して、覚醒剤依存患者の遺伝子を手に入れることが可能である。東京都医学総合研究所の池田和隆博士が、これらの遺伝子の管理をしていることから、本研究の分担研究者を依頼した。

JGIDA から日本人の覚醒剤乱用者のDNA を入手する。それぞれの関係機関の倫理委員会での審議と承認を得てから解析を開始した。

遺伝子修飾については、Shati/Nat8l のプロモーター部位でのメチル化の検討を行う。バイサルファイト処理を適切に行うために、ヒトSHATI /NAT8L のDNA 領域を切断しない制限酵素をApE (<http://biologylabs.utah.edu/jorgensen/wayned/ape/>) を用いて検索し、その結果Nde I (TaKaRa Bio, Shiga, Japan)を見出している(切断配列: CA/TATG)。PCR プライマーはreverse 側にピオチン化プライマーを使用した(eurofins Genomics, Tokyo, Japan)。

今までに変異が報告されている部分から開始し、可能なら、Shati/Nat8lの全長シーケンスを行う。翻訳部位に該当するDNA の部分について優先的に検討を行う。その場合は、ハイスループットな検出が可能な、PyroMark を用いて、パイロシーケンス法にて実施した。

4. 研究成果

覚醒剤依存患者の診断や予防方法を確立する方法が見出すことが本研究の目的である。しかしながら、臨床研究に協力し、血液や遺伝子の提供に同意をくださる方が、他の疾患と比較して格段に少なく、個人情報保護法や倫理的、加えて科学的な観点からも適切にサンプルを収集しているのは、我国では、東京都総合医学研究所の池田和隆博士のグループのみである。そこで、研究代表者の研究室のスタッフと大学院生が実験に必要な機器や試薬を運搬し、東京都医学総合研究所で協力研究者や研修生の手続きをとり、1カ月期間滞在の上、実験を実施した。DNA をバイサルファイト法にて、処理を行い、パイロシーケンサーで解析を行った。その結果、Shati のプロモーター部位の特定の CpG アイランドで覚醒患者では、有意にメチル化の割合に変化があることが明確となった。今後、萌芽的な挑戦的であった本研究を拡大することによって、依存性を持つ可能性の高い患者や、治療過程にある患者に対して、予防や治療効果に活用できるように対象者を増やした臨床研究に結び付けていきたいと考えている。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計8件)

Haddar M, Uno K, Azuma K, Muramatsu SI, Nitta A. Inhibitory effects of Shati/Nat8l

overexpression in the medial prefrontal cortex on methamphetamine-induced conditioned place preference in mice. **Addict Biol.** 2019 Apr 5. doi: 10.1111/adb.12749. [Epub ahead of print]

Toriumi K, Tanaka J, Mamiya T, Alkam T, Kim KC, Nitta A, Nabeshima T, Shati/Nat8l knockout mice show behavioral deficits ameliorated by atomoxetine and methamphetamine. **Behav Brain Res**, 339; 207-214 (2018) doi: 10.1016/j.bbr.2017.11.040

Fu K, Miyamoto Y, Sumi K, Saika E, Muramatsu S, Uno K, Nitta A, Overexpression of transmembrane protein 168 in the mouse nucleus accumbens induces anxiety and sensorimotor gating deficit. **PLoS One** 12; e0189006 (2017) doi: 10.1371/journal.pone.0189006

Sumi K, Uno K, Noike H, Tomohiro T, Hatanaka Y, Furukawa-Hibi Y, Nabeshima T, Miyamoto Y, Nitta A. Behavioral impairment in SHATI/NAT8L knockout mice via dysfunction of myelination development. **Sci Rep**, 7; 16872 doi: 10.1038/s41598-017-17151-1. (2017)

Fu K, Miyamoto Y, Otake K, Sumi K, Saika E, Matsumura S, Sato N, Ueno Y, Seo S, Uno K, Muramatsu S, Nitta A, Involvement of the accumbal osteopontin-interacting transmembrane protein 168 in methamphetamine-induced place preference and hyperlocomotion in mice. **Sci Rep**, 7; 13084 doi: 10.1038/s41598-017-13289-0. (2017)

Miyamoto Y, Iegaki N, Fu K, Ishikawa Y, Sumi K, Azuma S, Uno K, Muramatsu S, Nitta A Striatal *N*-acetylaspartate synthetase Shati/Nat8l regulates depression-like behaviors via mGluR3-mediated serotonergic suppression in mice. **Int J. Neuropsychopharmacol.** doi: 10.1093/ijnp/pyx078 (2017)

Mouri A, Noda Y, Niwa M, Matsumoto Y, Mamiya T, Nitta A, Yamada K, Furukawa S, Iwamura T, Nabeshima T. The involvement of brain-derived neurotrophic factor in 3,4-methylenedioxy-amphetamine-induced place preference and behavioral sensitization. **Behav Brain Res**, 30;329:157-165 doi: 10.1016/j.bbr.2017.04.052 (2017)

Uno K, Miyazaki T, Sodeyama K, Miyamoto Y, Nitta A. Methamphetamine induces Shati/Nat8L expression in the mouse nucleus accumbens via CREB- and dopamine D1 receptor-dependent mechanism. **PLoS One**. 12; e0174196. doi:10.1371/journal.pone (2017)

[学会発表](計 35 件)

Nitta A, Fu K, Otake K, Sumi K, Saika E, Sato N, Ueno Y, Uno K, Muramatsu SI, Miyamoto Y, Inhibitory effects of accumbal transmembrane protein 168 (TMEM168) on methamphetamine-induced place. 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (WCP2018 Kyoto) 2018

新田淳美「AAV ベクターによる TMEM の過剰発現は薬物依存関連行動と不安作用を変化させる」(Effects of overexpression of TMEM-induced by AAV on the behavioral changes of the drug dependence and anxiety. 第 24 回日本遺伝子細胞治療学会学術集会 2018

新田淳美, Requirement of postmortem brain research in the psychopharmacological study of a novel molecule, Piccolo 第 40 回日本生物学的精神医学会・第 61 回日本神経化学会大会合同年会 2018KOBE, 2018

Nitta A, Sumi K, Noike H, Miyamoto Y, Uno K. Behavioral impairment via delay myelination

development in the prefrontal cortex of SHATI/NAT8L knockout mice. CINP 31th World Congress (CINP2018), 2018

新田淳美: 依存性薬物の薬理作用発現を抑制する分子群 行動薬理的・生化学的研究. シンポジウム 19 依存性薬物の光と影. 第 39 回日本生物学的精神医学会・第 47 回日本神経精神薬理学会合同年会, 2017

Nitta A.: Novel molecules, Shati/Nat8l, Piccolo and TMEM168, protect methamphetamine dependence in mice. Joint AsCNP-ASNP meeting (JM02 Addiction research collaborations in Asia). The 5th Congress of AsCNP 2017, 2017

〔図書〕(計 1 件)

Nitta A, Noike H, Sumi K, Miyanishi H, Tanaka T, Takaoka K, Nagakura M, Iegaki N, Kaji JI, Miyamoto Y, Muramatsu SI, Uno K, Shati/Nat8l and N-acetylaspartate (NAA) have important roles in regulating nicotinic acetylcholine receptors in neuronal and psychiatric diseases in animal models and humans, "Nicotinic Acetyl choline Receptor Signaling in Neuroprotection" ed by Akaike A, Shimohama S, Misu Y
89-111 ページ (全 191 ページ) Springer Nature

新田淳美, 薬物依存関連遺伝子 Shati/Nat8l、Piccolo および TMEM168 の生理機能および薬物依存治療薬標的としての有用性. 薬物依存関連遺伝子 Shati/Nat8l、Piccolo および TMEM168 の生理機能および薬物依存治療薬標的としての有用性

〔産業財産権〕

取得状況 (計 1 件)

名称: プロポリスのミセル化抽出物を有効成分とする認知機能改善剤
発明者: 新田淳美、鷲見和之、野池悠、宇野恭介
権利者: 国立大学法人富山大学
種類: 公開公報
番号: 特開 2018-024654
取得年: 2018 年 2 月 5 日
国内外の別: 国内

〔その他〕

ホームページ等
富山大学大学院医学薬学研究部 (薬学)・薬物治療学研究室ホームページ
<http://www.pha.u-toyama.ac.jp/yakuchi/top.html>

こころの病気を探求する
<http://sai-jisedai.jugem.jp/>

富山大学 教員総覧 新田淳美
http://evaweb.u-toyama.ac.jp/html/386_ja.html?k=%E6%96%B0%E7%94%B0

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名: 宇野 恭介

ローマ字氏名: Kyosuke Uno

所属研究機関名: 富山大学

部局名：大学院医学薬学研究部（薬学）

職名：助教

研究者番号（8桁）：30608774

研究分担者氏名：池田 和隆

ローマ字氏名：Kazutaka Ikeda

所属研究機関名：公益財団法人東京都医学総合研究所

部局名：精神行動医学研究分野

職名：分野長

研究者番号（8桁）：60281656

研究分担者氏名：西澤 大輔

ローマ字氏名：Daisuke Nishizawa

所属研究機関名：公益財団法人東京都医学総合研究所

部局名：精神行動医学研究分野 主席研究員

職名：分野長

研究者番号（8桁）：80450584

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。