

平成22年 1月 31日現在

研究種目：基盤研究(B)
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18390025
 研究課題名（和文） 神経ペプチドPACAPを標的とした精神疾患病態への分子遺伝学的アプローチ
 研究課題名（英文） **Molecular genetic study on the pathophysiology of psychiatric disorders based on the role of PACAP**
 研究代表者
 新谷 紀人 (NORIHITO SHINTANI) (2008)
 大阪大学・大学院薬学研究科・助教
 研究者番号：10335367

研究成果の概要：

精神疾患とPACAPとの関連について、(1)ヒトPACAPの一塩基多型と種々精神疾患/病態との関連、(2)同分子病態としての脳神経核応答性低下およびセロトニン神経機能変化の同定、(3)神経発達障害仮説(同病因のひとつ)を支持する知見、(4)注意欠陥多動症(ADHD)治療薬とセロトニン1A受容体作動薬の併用による鎮静化作用に関する知見、を基礎および臨床の側面的から明らかにし、統合失調症、双極性障害、ADHDの分子病態研究におけるPACAPという新しい視点の導入を達成した。

交付額

(金額単位:円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	6,300,000	1,890,000	8,190,000
2007年度	4,400,000	1,320,000	5,720,000
2008年度	4,400,000	1,320,000	5,720,000
年度			
年度			
総計	15,100,000	4,530,000	19,630,000

研究分野:医歯薬学

科研費の分科・細目:薬学・生物系薬学

キーワード:薬理学、臨床遺伝学、精神疾患

1. 研究開始当初の背景

これまで飛躍的進展を見せている神経変性疾患研究と同様に、統合失調症、双極性障害、注意欠陥多動性障害(ADHD)などの精神疾患研究でも、臨床での原因遺伝子や脆弱性に関する遺伝子多型の同定、基礎研究での関与因子の明確化と病態機序の*in vivo*研究に有用な動物モデルの開発、およびこれら基礎/臨床の双方向性の研究展開が重要視されつつあった。

一方我々は、神経ペプチド pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP)の機能評価を行っており、特にその遺伝子欠損マウス

で以下の予測外の知見を得ていた。

- (1) PACAP 欠損マウスは、自発運動亢進、異常ジャンプ行動、や海馬シナプス伝達の長期増強(LTP)の障害を示した(PNAS, 2001 等)。
- (2) これら行動異常や、その各種治療薬への良好な反応性から、本マウスは、統合失調症やうつ病、ADHD 等の疾患に一部含まれる形質(中間表現型)を持つことが示された。
- (3) 本マウスを ADHD モデルとして解析し、治療薬アンフェタミンの逆説的鎮静化作用への前頭前野セロトニン(5-HT)1A 受容体活性化の関与を見出した(当初未発表)。

そしてこれに関連して、遠山教授(大阪大・医)らは、統合失調症が連鎖する家系で発見された DISC1 (Disrupted-In-Schizophrenia 1) の結合因子として DBZ (DISC1-binding zinc finger-like protein) を同定し、我々の成果を基に、PACAP がその機能連関を修飾することを見出していた(当初未発表)。また世界的にも、家系/関連解析、気分安定薬リチウムの作用解析から、PACAP と精神疾患との関連を示す報告が相次いでいた。

すなわち、我々が報告した“PACAP 欠損マウスにおける様々な精神行動異常”を基として、国内外で、PACAP を標的とした精神疾患領域での基礎/臨床研究が急激に進みつつあった。

2. 研究の目的

本研究は、当研究チームにおける変異マウスの研究から必然的に導き出された全く新規のアプローチにより、統合失調症、双極性障害、ADHD の分子病態の解明を目指す。これら精神疾患の、(1) 疾患および量的形質としての中間表現型にかかる遺伝子関連研究、(2) 分子神経化学・行動薬理学・解剖生理学的機序の解析、を行い、具体的には、(3) 神経発達障害仮説に基づいた PACAP の作用機序の解析、(4) ADHD 治療薬の治療効果(逆説的鎮静化)への 5-HT_{1A} 受容体の関与とその臨床的応用(創薬標的として)や作用発現機序の解析、を行う。

以上より、疾患分子基盤およびこころのメカニズム研究の展開を目指すことを目的とした。

3. 研究の方法

(1) ヒト一塩基多型と疾患との関連解析

統合失調症 900 例、双極性障害 300 例、うつ病性障害 600 例、健常者 800 例のサンプルを用い、各疾患およびその中間表現型(量的形質)と PACAP およびその受容体 PAC₁, VPAC₁, VPAC₂ の一塩基多型(SNPs)の関連を解析した。(国立精神神経センターとの多拠点共同研究)。

(2) PACAP 遺伝子欠損に伴う表現型の解析

分子神経化学・行動薬理学的手法により、各種精神疾患の臨床所見を反映するとされる表現型およびその薬物反応性を解析した。また同マウス脳の脆弱性について、海馬障害モデル等を用いて解剖生理学的解析を行った。

(3) 神経発達における PACAP 機能解析

精神疾患の発症機序として、神経発達障害仮説が提唱されている。そこで初代培養神経細胞における PACAP および関連因子の機能について、特に神経発達(神経突起の伸展)に注目した解析を行った。

(4) ADHD 治療薬の作用機序解析

メタンフェタミン、メチルフェニデート、アトモキセチンなど ADHD 治療薬の作用機序を、5-HT_{1A} 受容体および前頭前野に着目した行動薬理学・組織化学的検討から解析した。

4. 研究成果

(1) ヒト PACAP SNPs と精神疾患との関連

PACAP およびその選択的受容体 PAC₁ の SNPs と統合失調症との関連、また特に強い関連が認められた SNP3 (PACAP 遺伝子) とうつ病、および統合失調症患者の視覚性連合記憶障害の増悪などの中間表現型との関連を見出した(論文④、学会発表③および Hashimoto R et al. Neurosci Lett. (2010) 468:300-303)。

(2) 精神疾患モデルの分子機序解析

PACAP 欠損マウスにおいて、抗うつ薬デシプラミン抵抗性のうつ様行動および 5-HT₂ 受容体遮断薬や PACAP 脳内急性投与の改善作用を見出し、脳内 5-HT₂ 受容体の機能亢進を示す知見を得た(論文③)。さらに脳内 5-HT 量を増加させる薬物が本マウスの異常ジャンプ行動を抑制することを見出し(論文⑦)、多動性発現への 5-HT 神経の可塑的変化の重要性を示した(論文③)。また、本マウスが種々精神疾患の臨床所見を複合的に反映する新規モデルとなることを示した(論文⑨)。

一方、本マウスにおいて、有機スズ投与や拘束負荷による血中コレステロン上昇の消失(論文⑧)、海馬をはじめとする各種神経核の反応性(c-Fos 発現: 後シナプス神経活性化の指標)低下を同定した(学会発表④)。

(3) 神経発達における PACAP の機能解析

PACAP による DISC1-DBZ 分子間相互作用の促進が、神経突起伸展に促進的に働くことを見出した。また、これら因子が、PAC₁ と同様、神経新生が盛んな海馬歯状回顆細胞層に強度に発現することを明らかにした(論文⑤)。

一方研究遂行過程に報告された“統合失調症の病態発現に 5-HT₂ 受容体を介した egr (early growth response)-2 発現が関わるという知見(Nature, 2008)”と関連して、初代培養神経細胞ではグルタミン酸や PACAP が egr 遺伝子群の発現を著明に促進し、神経突起伸展に関わる可能性を見出した(学会発表①)。

(4) ADHD 治療薬に関する検討

“アンフェタミンと 5-HT_{1A} 受容体作動薬の併用が運動量の抑制に有効”であることを見出していた(申請時未発表、論文⑩)。この作用の普遍性を、他の ADHD 治療薬を用いて行動薬理的に検証した(論文①)。また c-Fos 発現解析から、両薬物の併用効果は線条体や側座核では見られず、前頭前野特異的に見られることを明らかにした(論文②)。

【総括と意義】

本研究では、申請者らが見出した PACAP 欠損マウスの知見に基づく基礎/臨床の両面からの研究アプローチにより、統合失調症、双極性障害、ADHD の分子病態解明を目指した。

その結果、1) PACAP がマウスの精神機能のみならず、ヒトの種々の精神疾患(およびそれらに共通する中間表現型のうち特に海馬機能障害)に関わる新しいリスク遺伝子として働くという臨床上の知見、2) その脳内分子病態として、海馬をはじめとする各種脳神経核の反応やストレスホルモン動態の応答性、およびセロトニン神経系(特にセロトニン2受容体)の機能変化の関与を示す基礎研究データ、を明らかにし、また、3) 精神疾患の病因とされる神経発達障害仮説を支持する知見として、PACAP が(特に神経新生が盛んな海馬歯状回の)神経発達に促進的な役割を担うこと、4) “ADHD 治療薬と5-HT1A受容体作動薬の併用による鎮静化作用”に関する、普遍的な薬理学的特性、およびその機序にかかる前頭前野の重要性、を明らかにした。

以上、PACAP を標的とした新規のアプローチにより、精神疾患研究でも、脆弱性に関する遺伝子多型の同定(臨床)、基礎研究での *in vivo* 研究に有用な動物モデルの開発(基礎)が有用であることを実証し、今後の精神疾患研究(特に疾患発現に関わる新たな神経/分子機構の同定)に極めて有用な多数の知見を得た。

これらの成果は各種学会賞に結びつくなど国内外で高い評価を受け、また同グループの(臨床を含めた)精神機能領域での PACAP 研究のリーディンググループとしての位置確立にも貢献した。今後、以上の成果を基礎とした、これまで以上の基礎/臨床の双方向性からも精神疾患研究が促進されると期待される。

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](下記10件ほか計43件)

- ① Tsuchida R, Shintani N③, Hashimoto H⑧, Baba A⑨(計9名), Inhibitory effects of osetozotan, a serotonin 1A-receptor agonist, on methamphetamine-induced c-Fos expression in prefrontal cortical neurons. *Biol Pharm Bull.* 32, 728-731 (2009), 有
- ② Tsuchida R, Shintani N⑤, Hashimoto H⑧, and Baba A⑨(計9名), An antihyperkinetic action by the serotonin 1A-receptor agonist osetozotan co-administered with psychostimulants or the non-stimulant atomoxetine in mice. *J Pharmacol Sci.* 109, 396-402 (2009), 有
- ③ Hashimoto H①, Hashimoto R②, Shintani N③, Takeda M⑪, Baba A⑫(計12名), Depression-like behavior in the forced swimming test in PACAP-deficient mice: amelioration by the atypical antipsychotic

risperidone.. *J Neurochem.* 110, 595-602 (2009), 有

- ④ Ago Y①, Nakamura S, Baba A③, Matsuda T. Neuropsychotoxicity of abused drugs: effects of serotonin receptor ligands on methamphetamine- and cocaine-induced behavioral sensitization in mice. *J Pharmacol Sci.* 106, 15-21 (2008), 有
- ⑤ Hashimoto R①, Hashimoto H②, Shintani N③, Kunugi H(24) and Baba A(25)(計25名), Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide is associated with schizophrenia. *Mol. Psychiatry*, 12, 1026-1032 (2007), 有
- ⑥ Hattori T, Hashimoto H⑧, Shintani N⑨, Baba A⑩, Tohyama M⑬, and Katayama T (計16名), A novel DISC1-interacting partner DISC1-Binding Zinc-finger protein: implication in the modulation of DISC1-dependent neurite outgrowth. *Mol. Psychiatry*, 12, 398-407 (2007), 有
- ⑦ Shintani N①, Hashimoto H②, and Baba A⑨(計9名), Serotonergic inhibition of intense jumping behavior in mice lacking PACAP (*Adcyap1*^{-/-}). *Ann N Y Acad Sci*, 1070, 545-549, (2006), 有
- ⑧ Morita Y, Shintani N③, Hashimoto H⑦, and Baba A⑧(計9名), Lack of trimethyltin (TMT)-induced elevation of plasma corticosterone in PACAP-deficient mice. *Ann N Y Acad Sci*, 1070, 450-456, (2006), 有
- ⑨ Hashimoto H, Shintani N, Baba A, New insights into the central PACAPergic system from the phenotypes in PACAP- and PACAP receptor-knockout mice. *Ann N Y Acad Sci*, 1070, 75-89, (2006), 有
- ⑩ Tanaka K, Shintani N②, Hashimoto H③, Hashimoto R⑦, Kunugi H⑧, and Baba A⑫ Psychostimulant-induced attenuation of hyperactivity and prepulse inhibition deficits in *Adcyap1*-deficient mice. *J. Neurosci.*, 26, 5091-5097 (2006), 有

[学会発表](下記5件ほか計48件以上)

- ① 尾形 勝弥, 他 PACAP induces early growth response gene in cortical neuron. 第82回日本薬理学会年会, 2009年3月16-18日, 横浜
- ② Baba A. Roles of a neuropeptide, PACAP, on psychomotor function and photoentrainment, The 19th Korea-Japan Joint Seminar on Pharmacology, The 60th Annual meeting of the Korean Society of Pharmacology, 2008年11月7-8日, 釜山, 韓国
- ③ Hashimoto H, et al. Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP): A new risk factor for neuropsychiatric disorders. The 47th ACNP (American

College of Neuropsychopharmacology)
Annual Meeting, 2008年12月7～11日
Arizona, USA

- ④ Shintani N, et al. Central PACAP plays a stimulatory role in the stress-induced HPA-axis response. The 51st Annual Meeting of the Japanese Society for Neurochemistry 2008年9月11～13日, 富山
- ⑤ Hashimoto R, Translational Research for Schizophrenia. 4th Japanese-German Frontiers of Science Symposium. 2007年11月1～4日, 湘南

[図書](計2件)

- 1 馬場 明道 他、遺伝子医学 MOOK⑧ペプチドと創薬(メディカルドゥ)、2007年、「神経ペプチド PACAP-新しい創薬標的分子探索へ」168-172.
- 2 新谷 紀人 他、Keyword 精神第4版(先端医学社)、2007年、「PACAP 欠損マウス」214-215.

[その他]

<http://www.phs.osaka-u.ac.jp/homepage/b010/index.html>

<http://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/psy/www/jp/labo/sp/index.htm>

6. 研究組織

(2008年度)

(1)研究代表者

研究者番号:70107100

新谷 紀人(NORIHITO SHINTANI)

研究者番号:30240849

(2)研究分担者

馬場 明道(AKEMICHI BABA)

大阪大学・大学院薬学研究科・教授

研究者番号:10335367

吾郷 由希夫(YUKIO AGO)

大阪大学・大学院薬学研究科・助教

研究者番号:60166527

橋本 亮太(RYOTA HASHIMOTO)

大阪大学・子どものこころの分子制御機構

研究センター・特任准教授

研究者番号:10370983

(2006～2007年度)

(1)研究代表者

橋本 均(HITOSHI HASHIMOTO)

大阪大学・大学院薬学研究科・准教授

研究者番号:30240849

(2)研究分担者

馬場 明道(AKEMICHI BABA)

大阪大学・大学院薬学研究科・教授

研究者番号:70107100

新谷 紀人(NORIHITO SHINTANI)

大阪大学・大学院薬学研究科・助教

研究者番号:10335367

吾郷 由希夫(YUKIO AGO)

大阪大学・大学院薬学研究科・助教

研究者番号:60166527

橋本 亮太(RYOTA HASHIMOTO)

大阪大学・子どものこころの分子制御機構

研究センター・特任准教授

研究者番号:10370983

(3)連携研究者

功刀 浩(HIROSHI KUNUGI)

国立精神神経センター

研究者番号:40234471

遠山 正彌(MASAYA TOHYAMA)

大阪大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号:40028593

武田 雅俊(MASATOSHI TAKEDA)

大阪大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号:00179649