

研究種目： 基盤研究(B)
研究期間： 2007 ~ 2010
課題番号： 19390062
研究課題名 (和文) ドーパミン関連神経精神疾患モデルにおける tPA の動態と機能解析
研究課題名 (英文) ANALYSES OF DYNAMIC CHANGES AND THE FUNCTION OF TISSUE PLASMINOGEN ACTIVATOR IN ANIMAL MODELS OF DOPAMINE-RELATED MENTAL DISORDERS
研究代表者
山田 清文 (YAMADA KIYOFUMI)
名古屋大学・医学部附属病院・教授
研究者番号： 30303639

研究分野： 医歯薬学

科研費の分科・細目： 基礎医学 ・ 薬理学一般

キーワード： 組織プラスミノゲン活性化因子、プラスミン、ドーパミン、薬物依存、
覚せい剤精神病、認知症

1. 研究計画の概要

これまでに我々は、組織プラスミノゲン活性化因子(tPA)ープラスミン系が脳内のドーパミン(DA)遊離を調節することにより、モルヒネやニコチンの依存形成に重要な役割を果たしていることを明らかにした。さらに、tPAープラスミンシグナルが側坐核における活動依存的な DA 遊離、すなわち、生理的な DA 遊離の制御にも関与していることを証明した。そこで本研究では、DA の関与が示唆されている統合失調症、発達障害およびパーキンソン病の動物モデルを作製し、これら DA 関連神経精神疾患の病態生理・病因に tPAープラスミンシグナルが関与しているかどうか調べた。さらに、神経精神疾患に対する治療薬の効果や副作用に tPA が関与しているかどうかについても検討し、tPA 関連分子を標的とした新しい神経精神疾患治療薬の可能性について検討した。

2. 研究の進捗状況

(1) 平成 19 年度は、脳内における tPA 放出の制御機構について、in situ zymography 法を用いて解析した。DA D1 受容体刺激により側坐核において tPA 放出が誘発され、その反応は DA D1 受容体アンタゴニストおよびプロテイン・キナーゼ A (PKA) 阻害剤により拮抗された。したがって、DA D1 受容体ーPKA シグナルが脳内における tPA 放出に重要であることが示唆された。さらに、メタンフェタミン(METH)を連続投与した覚せい剤精神病モデルマウスにおける DA 神経伝達の異常に tPAープラスミンシグナルが関与して

いるかどうか検討した。野生型マウスでは METH 連続投与により側坐核における METH 誘発性 DA 遊離に逆耐性が観察されたが、tPA-KO マウスでは逆耐性現象は認められなかった。以上の結果より、覚せい剤精神病モデルにおける DA 神経伝達の異常亢進に tPA が重要な役割を果たしていることが示唆された。

(2) 平成 20 年度は、覚せい剤精神病および発達障害動物モデルを作製し、脳内における tPA 関連分子の動態を解析した。METH を連続投与した野生型マウス(覚せい剤精神病動物モデル)においては、METH 誘発性 DA 遊離の増強と DA 作動性神経系のマーカーであるチロシン水酸化酵素(TH)の減少が認められた。一方、tPA-KO マウスでは DA 遊離の増強は消失したが、TH タンパクの減少(パーキンソン病モデル)は野生型マウスと同程度であった。以上の結果より、tPA は覚せい剤精神病における DA 作動性神経系の機能亢進に関与していること、METH の DA 作動性神経系に対する神経毒性には関与が少ないことが示唆された。さらに、離乳後より 4 週間の長期隔離飼育したマウス(発達障害モデル)の学習記憶・情動の変化と海馬における遺伝子発現の変化を調べた。長期隔離飼育マウスは学習記憶障害、情動行動の異常および海馬における神経新生の低下を示した。しかし、海馬における tPA および関連タンパク質をコードする遺伝子の発現に変化は認められなかった。

(3) 平成 21 年度は、前頭葉皮質のドーパミンが長期記憶に重要な役割を果たしてい

ることから、長期記憶における前頭葉皮質の tPA の役割を解析し、認知症との関連性を検討した。DAD1 受容体アゴニスト SKF38393 の投与により、マウス前頭葉皮質において長期記憶に重要なシグナル ERK1/2 のリン酸化が用量依存的に増加し、tPA タンパクが増加した。tPA-KO マウスでは、新奇物体認知試験における認知記憶に障害が認められた。tPA と同様に、細胞外マトリックス分解活性を有する分泌型のマトリックスメタロプロテアーゼ MMP-9 の遺伝子欠損 (MMP-9-KO) マウスにおいても、認知記憶障害が認められた。さらに、MMP-9-KO マウスを用いた動物実験より、アルツハイマー病およびてんかんの新しい治療薬の標的分子として MMP-9 が有望であることを示唆する結果も得られた。以上の結果より、前頭葉皮質における DA D1 受容体刺激を介した tPA の誘導が認知記憶に重要な役割を果たしていることが示唆された。さらに、tPA の他、MMP-9 も新しい中枢作用薬の標的分子となりうることを示唆された。

3. 現在までの達成度

①当初の計画以上に進展している。

(理由) 本研究において、tPA-プラスミンシグナルがモルヒネやニコチン依存だけでなく、覚せい剤依存あるいは覚せい剤精神病の形成に重要な役割を果たしていることを世界に先駆けて明らかにした。さらに、脳内における tPA の放出に DA D1 受容体刺激が重要であり、DA D1-tPA シグナルが記憶形成に関与していることも明らかにした。したがって、依存症、統合失調症あるいは認知症の治療薬の新しい標的分子として tPA が有望であることを示すことができた。さらに、MMP-9 も新しい中枢作用薬の標的分子となりうることを明らかにした。

4. 今後の研究の推進方策

これまでの研究より、tPA の中枢作用のメカニズムとしてトロンビン受容体である protease-activated receptor 1 (PAR1) の活性化をすでに報告している。今回の研究により、細胞外マトリックスの分解・再構成が tPA の作用として重要である可能性が示唆された。今後は、tPA や MMP などの分泌型タンパク分解酵素の中枢作用を解析し、中枢作用薬の新しい標的分子の探索研究をさらに推進する予定である。

5. 代表的な研究成果

(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 22 件)

① Mizoguchi H, Takuma K, Fukuzaki E, Ibi D, Someya E, Akazawa K, Alkam T, Tsunekawa H, Mouri A, Noda Y, Nabeshima T and Yamada K: Matrix metalloprotease-9 inhibition improves amyloid β -mediated cognitive impairment and neurotoxicity in mice. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, 331, 14-22, 2009. 査読有

② Fukakusa A, Nagai T, Mizoguchi H, Otsuka N, Kimura H, Kamei H, Kim H-C, Nabeshima T, Takuma K and Yamada K: Role of tissue plasminogen activator in the sensitization of methamphetamine-induced dopamine release in the nucleus accumbens. **J. Neurochem.** 105, 436-444, 2008. 査読有

③ Ibi D, Takuma K, Koike H, Mizoguchi H, Tsuritani K, Kuwahara Y, Kamei H, Nagai T, Yoneda Y, Nabeshima T, Yamada K: Social isolation rearing-induced impairment of the hippocampal neurogenesis is associated with deficits in spatial memory and emotion-related behaviors in juvenile mice. **J. Neurochem.** 105, 921-932, 2008. 査読有

④ Nagai T, Nabeshima T, Yamada K: Basic and translational research on proteinase-activated receptors: Regulation of nicotine reward by the tissue plasminogen activator (tPA) - plasmin system via proteinase-activated receptor 1. **J. Pharmacol. Sci.** 108, 408-414, 2008. 査読有

⑤ Ito M, Nagai T, Mizoguchi H, Sato K, Hayase M, Otsuka N, Fukakusa A, Kumagai N, Kim H-C, Nabeshima T, Takuma K, Yamada K: Activation of post-synaptic dopamine D₁ receptors promotes the release of tissue plasminogen activator in the nucleus accumbens via PKA signaling. **J. Neurochem.** 103, 2589-2596, 2007 査読有

[学会発表] (計 36 件)

[図書] (計 1 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ

<http://www.med.nagoya-u.ac.jp/pharmacy/>