

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年3月8日現在

機関番号：12501

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21791112

研究課題名（和文） 新規ペプチドNPSの精神疾患モデル動物における役割

研究課題名（英文） Role of Neuropeptide S in animal model of psychiatric disorder

研究代表者

岡村 斉恵（OKAMURA NAOE）

千葉大学 社会精神保健教育研究センター・講師

研究者番号：40527909

研究成果の概要（和文）：ニューロペプチドS（NPS）の精神疾患モデル動物、とくにうつ病モデル動物としての学習性無力ラットにおける役割を研究した。NPSは側坐核内に局所的に注入されることで、学習された無力状態を改善した。

研究成果の概要（英文）：We studied an effect of Neuropeptide S (NPS) in learned helplessness in the rat, an animal model of depression. We found that NPS has an antidepressant like effect on learned helplessness when injected locally in nucleus accumbens.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
平成21年度	1,400,000	420,000	1,820,000
平成22年度	1,400,000	420,000	1,820,000
平成23年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
総計	4,500,000	1,350,000	5,850,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・精神神経科学

キーワード：精神薬理学

## 1. 研究開始当初の背景

ニューロペプチドS（NPS）は2003年に同以前応募者は、統合失調症のグルタミン酸受容体機能低下仮説にもとづいて、N-メチル-D-アスパラギン酸（NMDA）受容体の選択的遮断薬であるMK-801が投与された動物を、統合失調症モデル動物とした研究を行った。この実験系は、細胞質が空胞化した神経細胞の数をNMDA受容体遮断薬による可逆的毒性の指標としたものである。この指標は

非定型抗精神病薬の薬理作用を反映しており、さらに現在統合失調症薬として臨床治験中である代謝型グルタミン酸受容体2/3アゴニストこのモデル動物で同様の効果をもとめているものである。この空胞化細胞の出現部位は後部帯状回に限定されるが、この部位は皮質辺縁系と深い関わりがあり、また統合失調症患者においても健常群に比べて活動性の低下が示唆されている部位である。

NPSは2003年に、GPR154として知られていたオーファン（内因性リガンドが未知で

ある状態の) G 蛋白結合型受容体のリガンドとして同定された神経ペプチドである。ラットを用いた実験では、NPS はその受容体とともに中枢神経系に優位に発現しており、さらに脳内においては、NPS は脳幹部にほぼ限定的な発現が、NPS 受容体は視床下部、扁桃体、海馬傍回、後部帯状回など皮質辺縁系を中心に幅広い発現が認められた (Xu et al., Neuron 2004)。動物行動実験では、NPS は脳内投与によって覚醒作用、抗不安作用、活動性の上昇効果を示し、NPS と NPS 受容体の脳内分布と合わせると、NPS システムは情動に影響を与えている可能性が示唆された。さらに NPS 受容体が皮質の中で後部帯状回に限定的に発現していたことから、NPS システムが前述のグルタミン酸機能低下仮説にもとづいた動物モデルにおいて何らかの役割を持つ可能性が考えられた。このご NPS を投与する実験を行い、応募者は 2005 年の北米神経科学会および 2006 年の世界神経内分泌学会で、NPS が上記の統合失調症モデル動物 (MK-801 投与ラット) において神経保護的な役割を持つものであるという研究結果を発表した。このときの成果では、このモデル動物において、NPS はクロザピンとほぼ同等の効果をしめした。

本研究はこのときの研究成果をさらに発展させるものである。NPS およびその受容体の情動や記憶における役割は、近年、いくつかの研究室において進められているが、精神疾患については報告がない。本研究は、新規ペプチドの生理機能についての理解を深める上で必須であると同時に、統合失調症の病態への理解を深めることができるものと考えられる。

## 2. 研究の目的

本研究は、現在までに施行し発表されてきた NPS についての研究結果をふまえた上で、NPS が、精神疾患モデル動物において、どのような役割をもっているかを明らかにするために行うものである。

具体的には、うつ病モデルの学習性無力ラットおよび対照群のラットにおいて、NPS が引き起こす行動学および生化学的变化を調べる。

まず、NPS による向精神薬様作用はこれまでの研究でいくつか報告があるが、抗うつ効果をしめす研究報告はない。しかしこれまでの研究は、強制水泳試験および尾懸垂試験で行われたもので、学習性無力モデルにおいて実施された報告は出ていない。

本研究の目的は、NPS の、学習性無力仮説にもとづいたうつ病モデル動物における、抗効果の確認と、その解剖学的/生化学的機序

の解明である。

学術的特色としては、この研究で対象としているペプチド NPS は、すでに抗精神病薬効果としての実験結果が応募者自身によって出ているものであり、これに追加する形で、抗うつ効果の有無を探索していくという内容である。

独創的な点としては、NPS が 5 年以内に同定された新規ペプチドということが挙げられる。新規ペプチドが病態機序解明や治療に大きな役割を果たした例としては、ナルコレプシーの病因に深い関与を持つオレキシン/ヒポクレチンをはじめ、疼痛の機序解明に貢献したオーファニン FQ/ノシセプチン、摂食や肥満の解明をすすめたグレリン、レプチンなど、数多い。本研究がターゲットとモデルを絞って進めていくことにより、NPS の生理的役割が明らかになると同時にうつ病の病態機序にも、いままでにはなかった視点からの知見を加えることができる。

予想される結果として、NPS が何らかの抗うつ薬的あるいは神経保護の効果をもつものであることを確認し、その機構を説明することができる。さらに、新しい治療標的となりうる候補分子を挙げることができる可能性がある。うつ病は罹病期間が年余にわたることもあり、また世界的に有病率の急激な増加が指摘されている。現在使用可能な抗うつ薬をもってしてもなお、治療抵抗性のうつ病は数割あるといわれている。病態解明や新規治療標的分子への手がかりは、意義深いと考えられる。

## 3. 研究の方法

本研究申請時点から研究開始時までに、複数のニューロペプチド S (NPS) 受容体遮断薬が新規に発見・合成され、研究論文として報告された。現時点で研究にもっとも適切な物質を選択するため、近年新規に報告された数種類の NPS 受容体遮断薬について、研究代表者が以前報告した SHA 68 を中心に、各物質の受容体選択性、機能、溶解性、入手可能性などの要素の比較検討を行った。本研究で使用する NPS 受容体遮断薬を SHA 68 と決定し、合成方法について検討したあと合成委託を行う会社を決定し、物質を合成した。

また交付申請書において使用予定であった精神疾患動物モデルである、N-メチル-D-アスパラギン酸 (NMDA) 受容体の選択的遮断薬である MK-801 を投与した動物については研究論文が発表されたため、いままで報告がなく学術的により重要性の高いうつ病モデルである学習性無力動物を使用することとし、モデルの作成を行った。このモデルは、逃避不可能な不快刺激 (電気ショッ

ク)を反復して与えられることで、自分が不快刺激に対して無力であることを学習し、深い刺激が与えられても逃避しなくなる行動をもって、うつ状態とみなすモデルである。過去のさまざまな研究者によって、本モデルは有効なうつ病モデルであり、抗うつ薬の投与によって状態が改善することも知られている。

学習性無力モデルは雄性SDラットを用いた。不快刺激である電気ショックはサンディエゴ・インストゥルメント社のジェミニ回避装置を用い、0.8ミリアンペアの電流を3秒間を1回として与えられた。1日目に回避不可能な環境で、電気ショックを30回与えた。2日目も1日目と同様に回避不可能な環境で30回の電気ショックを与えた。3日目は回避可能な環境で、30回の電気ショックを与え、そのうち回避に失敗(「うつ状態」のために回避を行うことができなかった)した回数が25回以上であったものを学習性無力の獲得とした(「うつ状態」に至ったとみなした)。本研究ではこの学習性無力の獲得は約65%であり、既報と照らし合わせて、標準的な学習性無力の獲得率であるといえる。4日目で脳内に薬物の投与を実施した。投与方法の詳細についてはのちの段落で説明する。5~7日目はとくに実験をおこなわれず飼育する。そして実験最終日の8日目、回避可能な環境で30回の電気ショックを与えた。8日目の実験における回避回数を、薬物(あるいは対象溶液)の影響による学習性無力(=「うつ状態」)の状態として、グループごとに比較され、研究成果とした。

薬物の投与は、脳内の局所投与方法でおこなった。NPSは、脳室内投与の場合1ナノモル投与が基準となる。これに準じて、脳内局所投与では1ピコモルおよび10ピコモルを投与した。0.1%BSAを含むPBSで1ピコモル/マイクロリットルおよび10ピコモル/マイクロリットルに調整したNPS溶液を作成しておき、上記溶液を1マイクロリットル、麻酔下で脳内に投与した。脳内では、報酬、快感、嗜癖、恐怖などに重要な役割を果たす側坐核に投与を行った。またNPS受容体遮断薬であるSHA68については、溶解が困難なため、まずクレモフォルELにて溶解し、最終的に10%クレモフォルELとなるように調整した。SHA68の濃度は、NPSの濃度に準じて100ピコモル/マイクロリットルとし、それをNPSと同様に1マイクロリットル投与した。

#### 4. 研究成果

まず、現在数種類ある選択的NPS受容体遮断薬では各物質の受容体選択性、機能、溶解性、入手可能性などの要素の比較検討を行った結果、SHA68の使用が適切であることが判明した。ひとつは合成方法があきらかであること、受容体選択性が高いこと、などがあげられる。問題点としてはSHA68は溶解性に難があり、そのため体内および脳内移行性について議論が難しいという議論がなされている。

ラットでは、報酬、快感、嗜癖、恐怖などに重要な役割を果たす側坐核にNPS受容体が中等度の密度で発現していることが知られている。本研究では、まず、うつ病のモデル動物である学習性無力動物(ラット)の側坐核内にNPSを局所的に注入し、その後うつ状態の指標である学習性無力の改善があるかどうかを判定した。

NPSは10ピコモルの濃度において、学習性無力状態を改善する効果を示した。しかし、1ピコモルの濃度においては、学習性無力状態を改善する効果を明らかに示さなかった。

またNPS受容体遮断薬であるSHA68によってNPSの効果はブロックされていることから、NPSの効果はNPS受容体を介したものであるということが出来る。この点については、選択的NPS受容体遮断薬SHA68の溶解性や体内移行性について困難な点が指摘されているため、今後、投与経路や投与量などを増やして追認実験を行うのがのぞましいと考えられる。

全体のまとめとしては、NPSは学習性無力ラットにおいて、側坐核に注入された場合、抗うつ薬様効果をしめした。すなわち学習性無力状態を、対照群にくらべ、改善する効果を示した。この効果は、NPS受容体遮断薬であるSHA68によって拮抗されたため、NPS受容体を介したものであることが分かった。

本研究は、NPSがうつ病の病態機序に関与している可能性をしめすものである。今後の動物実験や臨床知見において、NPSのうつ病への関与がさらに研究され、解明がすすむことが望まれる。

#### 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)

該当なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岡村 斉恵 (OKAMURA NAOE)

千葉大学・社会精神保健教育研究センター・  
講師

研究者番号：40527909

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：