

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 29 日現在

機関番号：33919

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24590304

研究課題名(和文)自己回復機能向上による新たな精神疾患治療法の確立

研究課題名(英文)Enriched environment on stress-induced abnormal behaviors

研究代表者

間宮 隆吉(MAMIYA, Takayoshi)

名城大学・薬学部・准教授

研究者番号：70340297

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：成熟期に情動行動異常を示すマウスを、遊具を備えた広いケージ内で4週間飼育するとその症状が緩解することを見出した。また、その飼育遊具の中で、利用率の高かった回転がごのみを設置したケージ内で同様に飼育したところ、症状が緩解された。次に健常マウスを同様に飼育し、脳内アレイ解析したところ、オピオイドペプチドDynorphin Aの発現が高くなっていた。次に、このペプチドの活性断片を正常マウスに連続投与し、ストレス負荷をしたところ、障害の発症が抑制された。以上のことから、自発運動によって脳内でのDynorphin Aの発現が高まり、この仕組みを利用すれば精神疾患の予防につながる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to clarify the endogenous system to protect the psychiatric disease. Firstly, DNA array showed more than 100 molecules expressed highly in the mouse brain by environmental enrichment for 4 weeks. One of them, dynorphin A, an endogenous opioid peptide, increased by the running wheel in the brain. Additionally, dynorphin A (1-13), a potent fragment of this peptide prevented repeated stress-induced behavioral impairments in mice. These results suggest that dynorphin might be induced to express in the brain by enriched environment and might alleviate the stress-induced behavioral impairments.

研究分野：神経精神薬理学

キーワード：飼育環境 精神疾患 疾患予防

### 1. 研究開始当初の背景

従来、精神疾患の研究では患者の弱点や欠如している負の側面に力点が置かれてきた。そして、精神疾患を理解するために、脆弱性モデル、ストレスモデル、生物心理社会モデルなどの理論モデルが考案されてきた。我々は理論モデルを基盤とした精神疾患モデル動物（薬物依存、アルツハイマー型認知症、統合失調症、衝動制御障害、ストレス障害）の作製に取り組み、これらを応用して精神疾患発症の分子メカニズムの解明や治療薬の開発研究を行ってきた。これまでに開発したモデル動物は研究機関だけでなく製薬会社においても新薬開発のスクリーニングのために利用されていることから、一定の役割を果たしてきたと考えている。その一方で、現在は理論に基づいた基礎研究成果を臨床で生かすトランスレーショナルリサーチが待ち望まれている。

近年、心理学領域から『レジリエンス』という概念が、精神科領域に導入され認識されるようになってきた。レジリエンスとは、元来個体に備わる復元力あるいは回復力を指し、既に社会/教育心理学の分野に導入されてきている。例えば、虐待あるいはいじめにあった児童を社会復帰させるために、児童の自力で立ち直る力を引き出し、社会適応を後押しすることに主眼が置かれてきたのである。また、精神科の医療現場では、個々の症例に対して試行錯誤し、時間をかけて有効な対処法を模索するのが現在の手法である。いずれの領域でも基礎分野での研究が立ち遅れているために十分な議論がなされず、基礎データを臨床に生かすこともできず非効率的である。薬だけの治療でなく、患者にとって精神的負担の少ない治療を受けることは患者の家族や医療従事者の皆が望むことである。

以上の点からも、基礎研究を基盤としたレジリエンス機構解明を通じて、自己回復力を効率よく引き出す手だてを見出し、精神疾患の予防や治療に貢献できる研究が必要である。

### 2. 研究の目的

上述のように、従来の精神疾患の基礎研究では、モデル動物の作製を通じて病態発症の分子メカニズムの解明や治療薬の開発研究が行われてきた。しかし、十分な精神疾患の究明や予防には至っておらず、これまでとは異なる切り口で取り組む必要がある。本研究では、通常的生活（飼育）環境において個体が有する復元力あるいは回復力（レジリエンス）機構を解明し、如何にこれらを高めて精神疾患予防や治療につなげられるか検討した。すなわち、健康な動物と精神疾患モデル動物とを神経科学的に比較することによって、健康を維持する分子群を調べ、精神疾患予防や治療に対する新たな戦略を構築するために実施した。

### 3. 研究の方法

まず、ストレスによる行動障害に対し、遊具等を備えた広い環境下での飼育が有効かどうか検討した。C57BL/6J 系の妊娠マウスを用い、胎生 14 日目から出産前日まで 1 日 3 回コミュニケーションボックスによる社会心理ストレスを負荷した。生まれたマウスが離乳する 4 週齢から 3 週間遊具等を設置した豊かな環境下（透明アクリル製ケージ W500 x D700 x H200 mm）で飼育した。その後、高架式十字迷路課題によって不安感受性を、ソーシャルインタラクション課題によって社会性を評価した。

次に、4 週齢の C57BL/6J 系マウスを回転かご付飼育ケージ（RW-15S、W175 x D245 x H125 mm、メルクエスト社製）で 3 週間飼育後に、前頭皮質及び海馬における分子の発現変化について DNA アレイ解析を行った。

さらに、アレイ解析によって発現レベルが上昇していたダイノルフィン A について、抗ストレス様作用を有するかどうか行動薬理的に検討した。生理食塩液に溶解した活性フラグメントの dynorphin A (1-13) を麻酔下で ddY 系マウスの脳室内に投与し、その 30 分後にマウス用オペラントボックス内で電気刺激を負荷した。マウスのレバー押しによる電気刺激回避失敗回数を計測し、dynorphin A (1-13) によるストレス緩解作用の指標とした。また、セロトニン神経系との関与について調べるために、行動実験後に脳内セロトニン（5-HT）およびその代謝物 5-HIAA 含量を HPLC-ECD システム（HITEC500 エイコム社製）により測定した。

なお、結果は全て平均値 ± 標準誤差で示し、分散分析後 Tukey 検定を行い、 $P < 0.05$  の時有意差ありと判定した。また本研究内容は、名城大学動物実験委員会の承認を得て実施した（薬実-12（2012 年度）、薬実-25（2013 年度）、PE-9（2014 年度））。

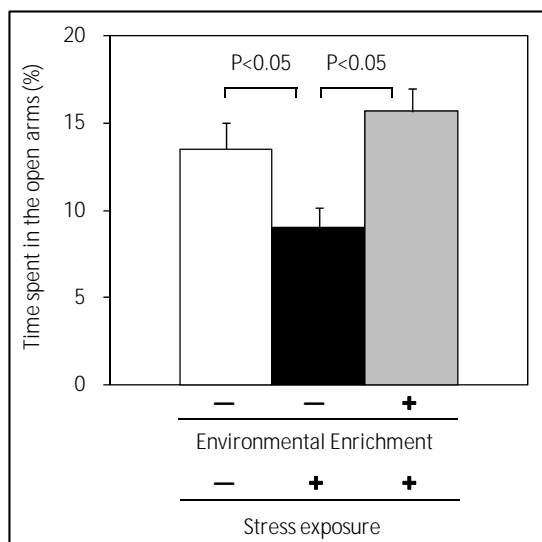


図 1 高架式十字迷路課題におけるストレス誘発行動障害に対する豊かな環境下での飼育の作用

#### 4. 研究成果

胎生期に社会的ストレスを負荷したマウスから生まれたマウスは、負荷しなかったマウスと同様に成長し、体重変化には差は認められなかった。また、ストレスを負荷したマウスでは、ソーシャルインタラクション試験においては有意な変化が認められなかったが、高架式十字迷路試験でオープンアームへの侵入回数の割合が低く、不安が惹起された ( $F_{2,53}=5.12, P=0.009$ )。一方、豊かな環境下で飼育すると、その不安様行動の惹起が抑制された (図 1)。したがって、胎生期のストレス負荷によって誘発される情動障害は飼育環境によって緩解されることが示唆された。

その飼育環境の中で、回転かごの滞在率および自発運動活性が高かった。そこで、回転かごを設置した通常ケージで飼育し、回転かごを設置しない通常ケージ内飼育したマウスとその後脳内の遺伝子発現について、DNAアレイ法を用いて網羅的に解析した。その結果、C57BL/6J 系雄性マウス (6 週齢) を 3 週間の回転かご付ケージ内での飼育によって約 100 遺伝子の発現が 2 倍以上になっていた。特に、神経ペプチドであるダイノルフィン A の発現が約 2 倍になっていた。

そこで、ダイノルフィン A の活性フラグメントであるダイノルフィン A (1-13) のレジリエンス亢進作用を検討した。すなわち、ddY 系雄性マウス (6 週齢) を用いて、オペラントボックス内でストレス誘発回避回数の増加 (レバー押し回数の減少) に対するダイノルフィン A (1-13) の作用を検討した (図 2A)。一日 30 分の連続ストレスによってマウスはうつ様症状を示すようになるために、逃避失敗回数は増加した。一方、ストレス負荷前にダイノルフィン A (1-13) を投与しておく、逃避失敗回数は減少し、ストレス抵抗性を示した ( $F_{2,23}=3.71, P=0.03$ , 図 2A)。また、その障害時のセロトニン機能を検討するために脳内のセロトニンおよびその代謝物 (5-HIAA) 比 (代謝回転比) を測定したところ、セロトニン含量は変化しなかったが、代謝物が増加したために、代謝回転比は上昇したが、ダイノルフィン A (1-13) によってストレス負荷しなかった群と同程度まで低下していた ( $F_{2,23}=5.02, P=0.02$ , 図 2B)。したがって、ダイノルフィン A (1-13) は脳内セロトニン神経系を調節することによって、レジリエンス機能を亢進し、その結果ストレスに対する抵抗性が增大していた可能性を見出した。

この 3 年間の研究期間では、自己防御あるいは回復機能を高める可能性のある分子を数多く見出し、そのうちの 1 つを研究論文として報告した。今後は運動活性を亢進することによって誘導される分子“群”の役割や機能について解析することで、ヒトで応用するための基盤づくりを進めたい。

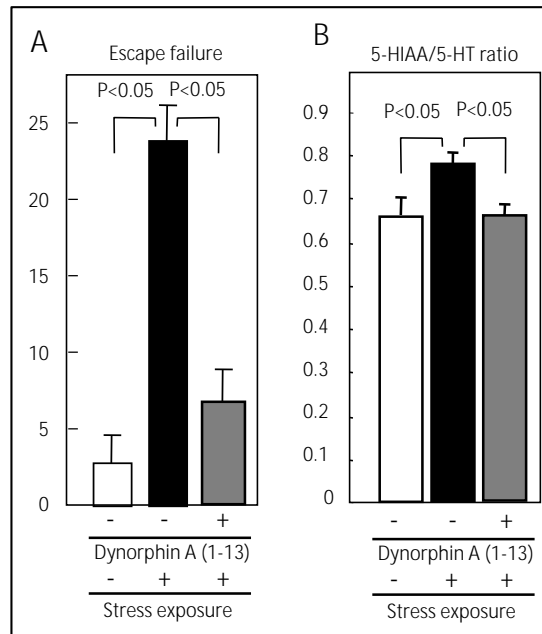


図 2 ダイノルフィン A のストレス緩解作用 (A) と脳内セロトニン代謝回転比への作用 (B)

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 16 件)

Shintani N, Onaka Y, Hashimoto R, Takamura H, Nagata T, Umeda-Yano S, Mouri A, Mamiya T, Haba R, Matsuzaki S, Katayama T, Yamamori H, Nakazawa T, Nagayasu K, Ago Y, Yagasaki Y, Nabeshima T, Takeda M, Hashimoto H.: Behavioral characterization of mice overexpressing human dysbindin-1. *Mol Brain*. 7: 74 (2014). (査読有)

doi: 10.1186/s13041-014-0074-x.

Toriumi K, Kondo M, Nagai T, Hashimoto R, Ohi K, Song Z, Tanaka J, Mouri A, Koseki T, Yamamori H, Furukawa-Hibi Y, Mamiya T, Fukushima T, Takeda M, Nitta A, Yamada K, Nabeshima T.: Deletion of SHATI/NAT8L increases dopamine D<sub>1</sub> receptor on the cell surface in the nucleus accumbens, accelerating methamphetamine dependence. *Int J Neuropsychopharmacol*. 17: 443-453 (2014). (査読有)

doi: 10.1017/S1461145713001302.

Mamiya T.: Roles of endogenous kappa-opioid systems in stress-related behavioral changes in mice. --Behavioral and neurochemical analysis in the learned helplessness test-- *J. Res. Inst. Meijo Univ*. 13: 11-18 (2014). (査読有)

Aoyama Y, Mouri A, Toriumi K, Koseki T, Narusawa S, Ikawa N, Mamiya T, Nagai T, Yamada K, Nabeshima T.: Clozapine ameliorates epigenetic and behavioral

abnormalities induced by phencyclidine through activation of dopamine D<sub>1</sub> receptor. *Int J Neuropsychopharmacol.* 17: 723-737 (2014). ( 査読有 )  
doi: 10.1017/S1461145713001466.  
Mamiya T, Hasegawa Y, Hiramatsu M.: Dynorphin A (1-13) alleviated stress-induced behavioral impairments in mice. *Biol Pharm Bull.* 37: 1269-1273 (2014). ( 査読有 )  
<http://doi.org/10.1248/bpb.b14-00006>  
Mamiya T, Morikawa K, Kise M.: Pregerminated brown rice enhanced NMDA receptor /CaMKII $\alpha$  signaling in the frontal cortex of mice. *J Rice Res.* 2: 123 (2014). ( 査読有 )  
doi: 10.4172/jrr.1000123  
Hida H, Mouri A, Ando Y, Mori K, Mamiya T, Iwamoto K, Ozaki N, Yamada K, Nabeshima T, Noda Y.: Combination of neonatal PolyI:C and adolescent phencyclidine treatments is required to induce behavioral abnormalities with overexpression of GLAST in adult mice. *Behav Brain Res.* 258: 34-42 (2014). ( 査読有 )  
doi: 10.1016/j.bbr.2013.09.026.  
Alkam T, Kim HC, Mamiya T, Yamada K, Hiramatsu M, Nabeshima T.: Evaluation of cognitive behaviors in young offspring of C57BL/6J mice after gestational nicotine exposure during different time-windows. *Psychopharmacology.* 230: 451-463 (2013). ( 査読有 )  
doi: 10.1016/j.bbr.2012.10.058.  
Joseph A, Tang M, Mamiya T, Chen Q, Yang LL, Jiao J, Yu N, Tang YP.: Temporal association of elevated cholecystokinergic tone and adolescent trauma is critical for posttraumatic stress disorder-like behavior in adult mice. *Proc Natl Acad Sci USA.* 110: 6589-6594 (2013). ( 査読有 )  
doi: 10.1073/pnas.1219601110.  
Toriumi K, Ikami M, Kondo M, Mouri A, Koseki T, Ibi D, Furukawa-Hibi Y, Nagai T, Mamiya T, Nitta A, Yamada K, Nabeshima T.: SHATI/NAT8L regulates neurite outgrowth via microtubule stabilization. *J Neurosci Res.* 91: 1525-1532 (2013). ( 査読有 )  
doi: 10.1002/jnr.23273.  
Mamiya T, Ukai M, Morikawa K, Kise M.: Intake of food pellets containing pre-germinated brown rice alleviates cognitive deficits caused by  $\beta$ -amyloid peptide<sub>25-35</sub> in mice: Implication of lipid peroxidation. *J Rice Res.* 1: 116 (2013). ( 査読有 )

doi: 10.4172/jrr.1000116  
Imai S, Mamiya T, Tsukada A, Sakai Y, Mouri A, Nabeshima T, Ebihara S.: Ubiquitin-specific peptidase 46 (Usp46) regulates mouse immobile behavior in the tail suspension test through the GABAergic system. *PLoS One.* 7: e39084 (2012). ( 査読有 )  
doi: 10.1371/journal.pone.0039084.  
Toriumi K, Mouri A, Narusawa S, Aoyama Y, Ikawa N, Lu L, Nagai T, Mamiya T, Kim HC, Nabeshima T. Prenatal NMDA receptor antagonism impaired proliferation of neuronal progenitor, leading to fewer glutamatergic neurons in the prefrontal cortex. *Neuropsychopharmacology.* 37: 1387-1396 (2012). ( 査読有 )  
doi: 10.1038/npp.2011.324.  
Mouri A, Koseki T, Narusawa S, Niwa M, Mamiya T, Kano S, Sawa A, Nabeshima T.: Mouse strain differences in phencyclidine-induced behavioural changes. *Int J Neuropsychopharmacol.* 15: 767-779 (2012). ( 査読有 )  
doi: 10.1017/S146114571100085X.  
Koseki T, Mouri A, Mamiya T, Aoyama Y, Toriumi K, Suzuki S, Nakajima A, Yamada T, Nagai T, Nabeshima T.: Exposure to enriched environments during adolescence prevents abnormal behaviours associated with histone deacetylation in phencyclidine-treated mice. *Int J Neuropsychopharmacol.* 15: 1489-1501 (2012). ( 査読有 )  
doi: 10.1017/S1461145711001672.  
Mouri A, Sasaki A, Watanabe K, Sogawa C, Kitayama S, Mamiya T, Miyamoto Y, Yamada K, Noda Y, Nabeshima T.: MAGE-D1 regulates expression of depression-like behavior through serotonin transporter ubiquitylation. *J Neurosci.* 32: 4562-4580 (2012). ( 査読有 )  
doi:10.1523/JNEUROSCI.6458-11.2012.

[学会発表](計 14件)

羽田麻希、間宮隆吉、角田侑紀、榊原奈美、宋由香、吉田あや、青山雄紀、鍋島俊隆、平松正行：胎生期ニコチン曝露が成熟期の学習・記憶機能に及ぼす影響 第135回日本薬学会年会(神戸)平成27年3月26日  
太田浩平、間宮隆吉、長屋有紀、鍋島俊隆、唐亜平、平松正行：前脳特異的コレシストキニン受容体タイプ2過剰発現マウスの行動解析 第135回日本薬学会年会(神戸)平成27年3月26日  
可知菜都美、間宮隆吉、田中絢子、鳥海和也、新田淳美、鍋島俊隆、平松正行：Shati

遺伝子欠損マウスにおける注意力欠損  
第 88 回日本薬理学会年会 (名古屋) 平成  
27 年 3 月 20 日

閻宮隆吉、大橋玄季、長屋有紀、宮村美崇、  
平松正行：ストレス誘発精神障害モデルの  
作製およびコーピング法の開発～胎児期  
社会的心理ストレスによる行動障害と豊  
かな環境下飼育による緩解作用～ 第 41  
回日本脳科学会 (福井) 平成 26 年 11 月  
23 日

閻宮隆吉、長屋有紀、太田浩平、神田沙也  
加、中村綾乃、Anu Joseph、Mingxi Tang、  
Qian Chen、LingLing Yang、Jianwei Jiao、  
Na Yu、Ya-Ping Tang、鍋島俊隆、平松正  
行：前脳コレシストキニン受容体の学習・  
記憶課題における役割 第 24 回日本臨床  
精神神経薬理学会・第 44 回日本神経精神  
薬理学会 合同年会 (名古屋) 平成 26 年  
11 月 21 日

閻宮隆吉、羽田麻希、角田侑紀、榊原奈美、  
末由香、吉田あや、青山雄紀、Alkam  
Turson、鍋島俊隆、平松正行：胎生期ニコ  
チン暴露が成熟期の学習記憶機能に及ぼ  
す影響 第 126 回日本薬理学会近畿部会  
(和歌山) 平成 26 年 10 月 24 日

長谷川裕也、閻宮隆吉、平松正行：精神的  
ストレス連続負荷が雄性マウスの性行動  
に及ぼす影響 第 60 回 (平成 26 年度) 日  
本薬学会東海支部総会・大会 (鈴鹿) 平成  
26 年 7 月 5 日

田中絢子、鳥海和也、渡辺裕之、可知菜都  
美、毛利彰宏、古関竹直、新田淳美、閻宮  
隆吉、鍋島俊隆、平松正行：Shati KO マ  
ウスの AD/HD モデルマウスとしての妥当  
性評価 第 87 回日本薬理学会年会 (仙台)  
平成 26 年 3 月 21 日

閻宮隆吉、平松正行：ストレスモデルマウ  
スの作製とストレス解消 第 23 回神経行  
動薬理若手研究者の集いシンポジウム～  
ストレスによる機能障害：基礎から臨床ま  
で～ (仙台) 平成 26 年 3 月 18 日

太田浩平、閻宮隆吉、長屋有紀、鍋島俊隆、  
唐 亜平、平松正行：コレシストキニンシ  
ステムの情動機能解析 第 23 回神経行動  
薬理若手研究者の集い (仙台) 平成 26 年  
3 月 18 日

閻宮隆吉、Anu Joseph、Mingxi Tang、  
Qian Chen、Ling-Ling Yang、Jianwei  
Jiao、Na Yu、Ya-Ping Tang、鍋島俊隆、  
平松正行：恐怖条件付け学習課題に対する  
若齢期ストレスの影響～前脳コレシスト  
キニン受容体過剰発現マウスを用いた検  
討～ 第 40 回日本脳科学会 (浜松) 平成  
25 年 9 月 28 日

閻宮隆吉、Anu Joseph、Mingxi Tang、  
Qian Chen、Ling-Ling Yang、Jianwei  
Jiao、Na Yu、Ya-Ping Tang、鍋島俊隆、  
平松正行：若齢期のストレス刺激は成熟期  
のすくみ行動を増強する：脳内コレシスト  
キニン受容体の関与 第 123 回日本薬理

学会近畿部会 (名古屋) 平成 25 年 7 月 12  
日

大橋玄季、鶴岡裕生、宮村美崇、古関竹直、  
毛利彰宏、平松正行、閻宮隆吉、鍋島俊隆：  
胎児期の繰り返し心理的ストレスは成熟  
期の行動異常を引き起こす 第 86 回日本  
薬理学会年会 (福岡) 平成 25 年 3 月 22  
日

閻宮隆吉、大橋玄季、鶴岡裕生、宮村美嵩、  
古関竹直、毛利彰宏、鍋島俊隆、平松正行：  
コレシストキニンシステムは心理的スト  
レス負荷誘発行動障害を緩解する フォ  
ーラム 2012 衛生薬学・環境トキシコロ  
ジー (名古屋) 平成 24 年 10 月 25 日

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

報道関連

PTSD モデルマウスの作成に関して

平成 25 年 4 月 13 日朝刊 (中日新聞) 4  
月 15 日 (Yahoo ニュース、47News など)、  
4 月 16 日朝刊 (読売新聞、毎日新聞、岐阜新  
聞、日刊工業新聞など)

アウトリーチ活動

閻宮隆吉 (実施代表者)、平松正行 (実施  
分担者)、武田直仁 (実施分担者)：平成  
26 年度日本学術振興会 ひらめき と  
きめきサイエンス～ KAKENHI (研究成  
果の社会還元・普及事業) 研究課題：み  
てみよう薬のききめ 探してみよう新し  
い効果～体験しよう行動薬理学の世界～  
平成 26 年 7 月 26 日実施 (整理番号：  
HT26169)

閻宮隆吉 (実施代表者)、平松正行 (実施  
分担者)、武田直仁 (実施分担者)：平成  
25 年度日本学術振興会 ひらめき と  
きめきサイエンス～ KAKENHI (研究成  
果の社会還元・普及事業) 研究課題：み  
てみよう薬のききめ 探してみよう新し  
い効果～体験しよう行動薬理学の世界～  
平成 25 年 7 月 27 日実施 (整理番号：  
HT25138)

ホームページ等

[http://www.yaku.meijo-u.ac.jp/Research/La  
boratory/chem\\_pharm/index.html](http://www.yaku.meijo-u.ac.jp/Research/Laboratory/chem_pharm/index.html)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

間宮 隆吉 (MAMIYA, Takayoshi)

名城大学・薬学部・准教授

研究者番号：70340297

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし