

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 25 日現在

機関番号：37107

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2013～2014

課題番号：25893282

研究課題名(和文)体内時計に着目した大麻惹起性精神障害の病態解明と治療法への応用

研究課題名(英文)Analysis of THC-induced depression mechanism focused on the molecular clock

研究代表者

高露 恵理子(KOHRO, ERIKO)

第一薬科大学・薬学部・助教

研究者番号：10708431

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：大麻主成分の 9-テトラヒドロカンナビノール(9-THC)による抑うつや不定愁訴などの精神障害に対する有効な治療法の開発が望まれているが、その発症メカニズムは依然として不明のままである。本研究では、9-THC惹起性精神障害の発症メカニズムを体内時計の分子機構の観点から解明することを目的とした。その結果、9-THC慢性投与マウスでは、強制水泳試験における無動時間の延長および体内時計により制御されている行動リズムの変容が認められた。また、線条体における時計遺伝子の発現リズムが変容していた。これらの結果より、体内時計の変容は抑うつ症状の発症に関与している可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Tetrahydrocannabinol (THC), a major component of the Cannabis Sativa, exhibits a variety of pharmacological effects. Previous studies have suggested that THC use may be a contributory cause of depression and suicidal behaviours. The alteration of clock genes expression in striatum has been suggested to be an underlying cause of drug-induced depression and addiction, in the psychoactive drugs such as cocaine and amphetamine. However, the physiological role of the clock genes in THC-induced depression has not yet been understood.

Here, we examined whether the alteration of circadian clock function might occur by chronic administration of THC in mice. THC-treated mice altered the circadian rhythm of clock genes expression in striatum. THC-treated mice exhibited alteration of locomotor activity and prolonged immobility time in forced swim test. These results suggest that disruption in circadian clock system may be an underlying cause of THC-induced depression.

研究分野：分子生物学

キーワード：大麻 体内時計

1. 研究開始当初の背景

大麻乱用者は世界的に増加傾向にあり、それに伴う刑事犯罪や医療費、薬物規制に関する司法関係経費が増大し、深刻な社会問題となっている。本国でも、インターネットの普及によってネットワークを介した大麻の密売買が横行し、若年層へ的大麻汚染は拡大し、憂慮すべき状況にある。大麻の乱用は、その主成分である⁹-テトラヒドロカンナビノール(⁹-THC)による幻覚作用をはじめとし、多様な有害作用を発現させる。特に、抑うつや不安を主症状とする精神障害は、断薬時の退薬症候として表れ、精神依存を強化させるため問題視されている。また、近年、若年期の精神障害は、統合失調症やうつ病の発症を高めることが報告され、公衆衛生の観点からも⁹-THC 惹起性精神障害に対する有効な治療法の開発が求められている。これまでに、⁹-THC による精神障害は、カンナビノイド受容体(CB1)を介したドパミン神経系の機能低下や線条体領域のドパミン受容体の機能異常が原因と考えられてきた。しかしながら、未だその分子メカニズムの解明や責任因子の同定には至っていない。

一方、近年の研究から体内時計の異常と精神疾患発症との関連性が指摘されている。さらに、モルヒネやコカインなどの依存性薬物は、時計遺伝子や体内時計により制御されていると考えられている睡眠・覚醒のリズムを変化させることが報告されているが、大麻と体内時計との関連性は明らかとなっていない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、体内時計の分子機構の観点から⁹-THC 惹起性精神障害の発症メカニズムを明らかにし、その治療標的分子を同定することである。以下の項目に沿って研究を行う。

⁹-THC による抑うつや不安の発症時に、体内時計が変容しているか検証する。

⁹-THC による精神障害の抑うつ・不安発症の原因遺伝子を同定する。

体内時計に作用する遺伝子の同定およびその転写制御機構を明らかにする。

精神障害発症時に体内時計に作用する遺伝子が新規治療標的分子となり得るか評価する。

以上の検討より、体内時計の分子機構を基盤とした⁹-THC 惹起性精神障害に対する新規治療法の開発を目指す。

3. 研究の方法

1) 実験動物

4週齢 ICR 雄性マウスを用いた。自由摂食・摂水、明暗周期(明期: 7:00-19:00)、恒温(温度: 24±1) 条件下で2週間飼育した。2週間飼育した後、⁹-THC を連続投与し各実験に用いた。⁹-THC は、1% Tween80 およびsaline で懸濁調製した。

2) RNA の定量

大麻惹起性の抑うつや不安の発症に重要と考えられている線条体から 9:00, 13:00, 17:00, 21:00, 1:00, 5:00 の6時点で各々のTotal RNA を抽出し、時計遺伝子および抑うつ症状関連遺伝子の発現リズムをそれぞれReal-Time PCR 法によって測定した。内部標準物質は -actin を用いた。

3) 自発行動量の測定

自発行動は、赤外線ビーム方式運動量測定装置 ACTIMO-10 (Shinfactory, 福岡)を用いて解析した。行動量を30分間ごとに算出し、マウスをケージに入れてから1週間の行動量の測定を行った。ケージは横; 291 mm、縦; 487 mm、高さ; 206 mm の透明ケージを用いた。測定匹数は1匹につき1ケージとした。

4) うつ様行動の評価

うつ様行動の評価は、強制水泳試験にて行なった。水をはったビーカーにマウスをいれ、7分間観察した。全観察時間のうち、後半4分間について、四肢を動かさず浮いている状態を無動時間として測定した。

4) 直腸温の測定

直腸温は、デジタル式サーミスター温度計を用いて、各時点において測定を行なった(夏目製作所 東京)。

4. 研究成果

うつ様症状に及ぼす⁹-THC の影響

⁹-THC 慢性投与によるうつ様症状への影響について、強制水泳試験にて評価した。その結果、⁹-THC 投与群では、vehicle 群と比較し、有意な無動時間の延長が認められた。また、行動リズムを測定した結果、明期における自発行動量には両群間で差異は認められなかったが、マウスの活動期である暗期では、vehicle 投与群と比較して⁹-THC 投与群で変化が認められた。

直腸温に及ぼす⁹-THC の影響

直腸温などの深部体温の概日リズムは、体内時計の制御が考えられている。そこで、⁹-THC 慢性投与の直腸温の概日リズムへの影響について検討した結果、いずれの時刻においても両群間に有意な差異は認められなかった。

時計遺伝子の発現に及ぼす⁹-THC の影響

続いて、⁹-THC 慢性投与による各時計遺伝子の発現リズムにおよぼす影響について検討した。その結果、いくつかの時計遺伝子において発現リズムの変化が認められた。さらに、神経細胞を用いて、⁹-THC 曝露後の各時計遺伝子の発現量を測定したところ、発現量変化が認められた遺伝子は in vivo と相関していた。

一方、うつ様症状の原因と考えられている遺

伝子においても測定を行なったが、両群間において有意な差異は認められなかった。

マイクロアレイを用いて網羅的に解析を行なった結果、 Δ^9 -THC を投与したマウスでは数種類のサイトカインが発現変化していることが明らかとなった。

現在、これら遺伝子と時計遺伝子の変容との関連性、さらに、それら遺伝子とうつ様症状発症との関連性について検討を行なっている。

本研究は、まだ課題も多く残っているが、本研究で行っている研究手法は、従来までの脳の器質的な変化に主眼を置いたメカニズム研究と大きく異なる。今後、体内時計の観点から Δ^9 -THC 惹起性精神障害に関わる因子の同定や病態発症のメカニズムを明らかにし、薬物依存症に対する新たな治療法の開発や創薬ターゲットの同定につなげることを目指していきたい。

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〕(計 4 件)

1. Okazaki H, Takeda S, Ikeda E, Fukunishi Y, Ishii H, Taniguchi A, Tokuyasu M, Himeno T, Kakizoe K, Matsumoto K, Shindo M, Aramaki H. Bongkrekic acid as a selective activator of the peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) isoform. *J Toxicol Sci.* 2015;40(2):223-33.

doi: 10.2131/jts.40.223. 査読有

2. Takeda S, Ikeda E, Su S, Harada M, Okazaki H, Yoshioka Y, Nishimura H, Ishii H, Kakizoe K, Taniguchi A, Tokuyasu M, Himeno T, Watanabe K, Omiecinski CJ, Aramaki H. (9)-THC modulation of fatty acid 2-hydroxylase (FA2H) gene expression: possible involvement of induced levels of PPAR in MDA-MB-231 breast cancer cells. *Toxicology.* 2014 326:18-24. doi: 10.1016/j.tox. 査読有

3. Takeda S, Okazaki H, Ikeda E, Abe S, Yoshioka Y, Watanabe K, Aramaki H. Down-regulation of cyclooxygenase-2 (COX-2) by cannabidiolic acid in human breast cancer cells. *J Toxicol Sci.* 2014;39(5):711-6. 査読有

4. Matsunaga N, Itcho K, Hamamura K, Ikeda E, Ikeyama H, Furuichi Y, Watanabe M, Koyanagi S, Ohdo S. 24-hour rhythm of aquaporin-3 function in the epidermis is regulated by molecular clocks. *J Invest Dermatol.* 2014;134(6):1636-44. doi: 10.1038/jid.2014.13. 査読有

〔学会発表〕(計 12 件)

1. 姫野 太一、池田 恵理子、岡崎 裕之、徳安 美紀、谷口 彩、石井 宏幸、垣添 和弘、竹田 修三、原口浩一、渡辺 和人、荒牧 弘範

エストロゲン受容体 ER 誘導能を示す化合物の網羅的解析と生体機能への影響評価
日本薬学会第 135 年会、2015.3 神戸

2. 池田恵理子、竹田修三、姫野太一、徳安美紀、西村肇、吉岡靖史、原口浩一、渡辺和人、荒牧弘範

ER の発現誘導能を示す環境化学物質の網羅的解析
日本薬学会第 134 年会 2014.3 熊本

3. 石井宏幸、池田恵理子、竹田修三、岡崎裕之、姫野太一、谷口彩、吉岡靖史、西村肇、渡辺和人、荒牧弘範

大麻主成分 Δ^9 -THC による PPAR を介した FA2H の発現制御メカニズムの解明
第 31 回日本薬学会九州支部会、2014.12 福岡

4. 池田恵理子、岡崎裕之、竹田修三、渡辺和人、荒牧弘範

大麻主成分 Δ^9 -THC のマウス概日時計機構に与える影響
第 21 回日本時間生物学会学術大会 2014.11 福岡

5. 徳安美紀、岡崎裕之、池田恵理子、石井宏幸、垣添和弘、姫野太一、谷口彩、吉岡靖史、竹田修三、原口浩一、渡辺和人、瀧口益史、荒牧弘範

新世代ビスフェノール(ビスフェノール AF)による ER を介したシグナル毒性
フォーラム 2014 衛生薬学・環境トキシコロジー 2014.9 筑波

6. 谷口彩、池田恵理子、竹田修三、徳安美紀、石井宏幸、吉岡靖史、西村肇、岡崎裕之、松本健司、新藤充、荒牧弘範

アポトーシス阻害剤ボンクレキシン酸の新たな生物活性: PPAR の選択的活性化剤としての有用性
フォーラム 2014: 衛生薬学・環境トキシコロジー、2014.9 つくば

7. 西村 肇, 竹田 修三, 小谷内 邦吉, 吉田 和貴, 池田 恵理子, 松本 健司, 新藤 充, 荒牧 弘範

エキソメチレンラクトン化合物-xanthatin による制がん: GADD45 及び c-Fos の恒常的二重発現を介したメカニズム
フォーラム 2013 衛生薬学・環境トキシコロジー 2013.9 福岡

8. 吉田 和貴, 竹田 修三, 西村 肇, 池田 恵理子, 渡辺 和人, 荒牧 弘範: 9-テトラヒドロカンナビノールによる ER 発現誘導を介したエストロゲン/ER 機能抑制
フォーラム 2013 衛生薬学・環境トキシコロジー 2013.9 福岡

〔図書〕(計 1 件)

池田恵理子: 抗うつ薬の新たな標的: 酸性スフィンゴミエリナーゼ-セラミド合成経路
公益社団法人 日本薬学会
ファルマシア 2 2014

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)
該当なし

取得状況(計 件)
該当なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高露 恵理子 (KOHRO ERIKO)
第一薬科大学・薬学部・助教
研究者番号: 10708431