

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 2 日現在

機関番号：34428

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K18874

研究課題名(和文) プロスタノイド受容体CRTH2を介する高次脳機能調節のメカニズムの解明

研究課題名(英文) Elucidation of a prostanoid receptor CRTH2-related mechanism in the regulation of higher brain functions

研究代表者

尾中 勇祐 (Onaka, Yusuke)

摂南大学・薬学部・助教

研究者番号：90749003

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：プロスタグランジン D2 受容体 CRTH2 は、末梢炎症での機能解明が進んでいる分子である。一方で、近年、CRTH2 が情動・認知機能障害の発現に関与することが明らかにされつつある。本研究では、病態モデル動物を用いた検討から、脳局所における神経機能制御に、同領域の CRTH2 シグナルが関与する可能性や、認知機能障害時の神経機能の変化に CRTH2 が関与する可能性を見出した。これらの結果は、病態時の情動・認知機能障害の発現に関与する CRTH2 の役割の解明に寄与するものである。

研究成果の概要(英文)：Prostaglandin D2 receptor, CRTH2, has well studied in the field of peripheral inflammation. Recently, it has revealed that CRTH2 functions in the emotional and cognitive impairments. In this study, it was shown that CRTH2 signaling in the local brain area could regulate the local neural function, and that CRTH2 signaling alternates local neural function related to the cognitive dysfunction, by using pathological animal models. These findings would contribute to understand the detailed role of CRTH2 in emotional and cognitive dysfunctions in pathological states.

研究分野：医歯薬学

キーワード：PGD2 情動機能 認知機能 炎症 統合失調症 がん

## 1. 研究開始当初の背景

プロスタグランジン D<sub>2</sub> 受容体である chemoattractant receptor-homologous molecule expressed on T helper type 2 cells (CRTH2)は、末梢炎症での機能解明が進んでいる分子である。研究代表者は、これまでに、CRTH2 の遺伝子欠損(KO)および拮抗薬により、リポ多糖(LPS)が誘発する情動機能障害が消失することを見出し、世界で初めて高次脳機能における CRTH2 の役割を明らかにしている (Haba. *et al.* J. Neurosci. 2014)。さらに、その後、うつ病モデル動物やがん病態モデル動物における情動機能障害、統合失調症モデル動物における認知機能障害の発現に CRTH2 シグナルが関与する可能性を見出した。また、LPS 投与後の扁桃体中心核や視床下部室傍核の神経機能を、CRTH2 が調節する可能性が示されており、CRTH2 が様々な病態における高次脳機能障害の発現に、神経機能調節を介して関与する可能性が考えられている。

## 2. 研究の目的

CRTH2 は複数の病態モデルの情動・認知機能障害の発現に関わることから、高次脳機能調節の基盤を形成する分子の1つである可能性が考えられるが、その詳細は不明である。そこで、本研究では、生理的条件下および様々な病態モデルにおける高次脳機能調節のメカニズムにおける CRTH2 の役割の追求を目的とした。

## 3. 研究の方法

### CRTH2 の mRNA 発現解析

8 週齢のナイーブなマウスの脳から嗅球、前頭前皮質(PFC)、線条体、海馬、視床下部、扁桃体、小脳、延髄、脊髄を分画した。また、胎生 10 日目から 8 週齢までのナイーブなマウスの海馬を分画した。分画したサンプルから抽出した mRNA を用いて、逆転写リアルタイム PCR 法を行い、CRTH2 および脳内細胞マーカーの発現量を定量した。

### 病態モデル動物の作製

LPS および、マウス大腸がん細胞である colon 26 をマウスに投与し、炎症誘発性のモデル動物を作製した。また、MK-801 をマウスに投与し、統合失調症様の異常行動を示すモデルマウスを作製した。各モデル動物を用いた解析には、CRTH2 の拮抗薬もしくは遺伝子欠損(KO)マウス、2-アラキドノイル酸をアラキドン酸に変換する酵素である、モノアシलगリセロールリパーゼ (MAGL)の阻害薬、アラキドン酸をプロスタグランジン H<sub>2</sub> に変換するシクロオキシゲナーゼ(COX)の拮抗薬を用いた。病態モデル動物を用いた行動実験として、social interaction test, novelty object recognition test を行った。

迷走神経切除：麻酔下において、腹部を切開し、迷走神経線維を結紮し、切断した。その

後、腹膜及び皮膚縫合し、1% povidone-iodine 溶液により縫合部を消毒した。術後 1 週間以上の回復期間の後、実験を開始した。

神経活動の評価：脳内の神経活性は神経活動マーカーである、c-Fos および Arc の発現誘導を指標として免疫組織化学的手法により解析した。

## 4. 研究成果

### 1) CRTH2 の脳内における発現分布およびタイムコース

成熟マウスでは、これまでに CRTH2 シグナルの関与が明らかにされている、海馬、扁桃体、視床下部を含む領域において、CRTH2 の発現が認められた。また、特に線条体においては、他の領域と 1.5~3 倍程度発現することを見出した。海馬における CRTH2 の発現タイムコースについて、胎生 16~18 日目をピークとして発現量が増加し、その後一定の発現量を維持することがわかった。今回明らかとなった、CRTH2 の発現ピークは、神経細胞マーカーである、MAP2 の発現ピークの時期と重なることから、CRTH2 が発生期の神経発達に関与する可能性が考えられた。

### 2) 情動機能障害の発現において CRTH2 が関与するメカニズム

LPS 投与モデルにおいて認められる社会性行動障害は、CRTH2 拮抗薬の後投与では改善しなかった。また、LPS が誘発する神経細胞の活性化に関して、迷走神経の切除は、視床下部室傍核において LPS が誘発する c-Fos 陽性細胞数の増加を有意に抑制したものの、扁桃体中心核において、影響を与えなかった。さらに、迷走神経切除を行ったマウスの扁桃体中心核において、CRTH2 拮抗薬は、LPS が誘発する c-Fos 陽性細胞数の増加を有意に抑制した。このことから、LPS による、扁桃体での神経活動の亢進は、脳局所における CRTH2 シグナルの活性化を介して引き起こされる可能性が考えられた。

### 3) 認知機能障害に関与する CRTH2 を介した神経機能調節

MK-801 投与モデルにおいて認められた、視床下部室傍核における c-Fos 陽性細胞数の増加は、CRTH2-KO により、有意に抑制された。一方で、MK-801 投与モデルにおいて認められた、後帯状/膨大後部皮質における c-Fos 陽性細胞数の増加や海馬における Arc 陽性細胞数の発現減少に、CRTH2-KO は影響を与えなかった。これらのことは、視床下部室傍核における CRTH2 シグナルを介した神経活性調節が、認知機能障害の発現に選択的に関与する可能性を示している。

### 4) がん病態時の高次脳機能障害への CRTH2 シグナルの関与

CRTH2 のリガンドである、PGD<sub>2</sub> の合成に

関連する酵素が、colon 26 投与モデルにおける情動機能障害に関与するかどうかを明らかにする目的で、プロスタグランジン産生の律速酵素である、COX-1, COX-2 および、近年、脳内のアラキドン酸合成の大部分を担うことが示された、MAGL の阻害薬を用いた検討を行った。その結果、colon 26 投与モデルで認められる社会性行動障害は、COX-1 および MAGL の阻害薬によって、完全に抑制された。一方で、colon 26 投与モデルを用いた認知機能の評価を行ったところ、colon 26 により誘発される認知機能障害は、CRTH2 の拮抗薬の投与や KO マウスでは改善しなかった。これらのことから、がん病態において、MAGL と COX-1 を介したプロスタグランジンの産生の増加が、CRTH2 の活性化を介して、情動機能障害を選択的に発現させる可能性が考えられた。

#### 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 11 件)

1. Hara Y, Ago Y, Taruta A, Katashiba K, Hasebe S, Takano E, Onaka Y, Hashimoto H, Matsuda T, Takuma K, Improvement by Methylphenidate and Atomoxetine of Social Interaction Deficits and Recognition Memory Impairment in a Mouse Model of Valproic Acid-Induced Autism, *Autism Res*, 2016, 9: 926-939, 査読あり
2. Onaka Y, Shintani N, Nakazawa T, Kanoh T, Ago Y, Matsuda T, Hashimoto R, Ohi K, Hirai H, Nagata K, Nakamura M, Kasai A, Hayata-Takano A, Nagayasu K, Takuma K, Ogawa A, Baba A, Hashimoto H, Prostaglandin D2 signaling mediated by the CRTH2 receptor is involved in MK-801-induced cognitive dysfunction, *Behav Brain Res*, 2016, 314, 77-86, 査読あり
3. Ago Y, Hasebe S, Hiramatsu N, Mori K, Watabe Y, Onaka Y, Hashimoto H, Takuma K, Matsuda T, Involvement of GABAA receptors in 5-HT1A and  $\sigma 1$  receptor synergism on prefrontal dopaminergic transmission under circulating neurosteroid deficiency, *Psychopharmacology*, 2016, 233, 3125-3134, 査読あり
4. Kawanai T, Ago Y, Watanabe R, Inoue A, Taruta A, Onaka Y, Hasebe S, Hashimoto H, Matsuda T, Takuma K, Prenatal Exposure to Histone Deacetylase Inhibitors Affects Gene Expression of Autism-Related Molecules and Delays Neuronal Maturation, *Neurochem Res*, 2016, DOI: 10.1007/s11064-016-1969-y, <http://link.springer.com/article/10.1007/s11064-016-1969-y>, 査読あり
5. Fujiwara K, Fujita Y, Kasai A, Onaka Y, Hashimoto H, Okada H, Yamashita T, Deletion of JMJD2B in neurons leads to defective spine maturation, hyperactive behavior and memory deficits in mouse, *Transl Psychiatry*, 2016, 6,e766, 査読あり
6. Higashino K, Ago Y, Umeki T, Hasebe S, Onaka Y, Hashimoto H, Takuma K, Matsuda T, Rivastigmine improves isolation rearing-induced prepulse inhibition deficits via muscarinic acetylcholine receptors in mice, *Psychopharmacology*, 2015, 233,521-528, 査読あり
7. Shibasaki Y, Hayata-Takano A, Hazama K, Nakazawa T, Shintani N, Kasai A, Nagayasu K, Hashimoto R, Tanida M, Katayama T, Matsuzaki S, Yamada K, Taniike M, Onaka Y, Ago Y, Waschek JA, Köves K, Reglődi D, Tamas A, Matsuda T, Baba A, Hashimoto H, Atomoxetine reverses locomotor hyperactivity, impaired novel object recognition, and prepulse inhibition impairment in mice lacking pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide, *Neuroscience*, 2015, 297, 95-104, 査読あり
8. Higashi S, Katagi K, Shintani N, Ikeda K, Sugimoto Y, Tsuchiya S, Inoue N, Tanaka S, Koumoto M, Kasai A, Nakazawa T, Hayata-Takano A, Hamagami K, Tomimoto S, Yoshida T, Ohkubo T, Nagayasu K, Ago Y, Onaka Y, Hashimoto R, Ichikawa A, Baba A, Hashimoto H, p13 overexpression in pancreatic  $\beta$ -cells ameliorates type 2 diabetes in high-fat-fed mice, *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 461(4), 612-7, 査読あり
9. Ago Y, Hasebe S, Nishiyama S, Oka S, Onaka Y, Hashimoto H, Takuma K, Matsuda T, The female encounter test, a novel method for evaluating reward-seeking behavior or motivation in mice, *Int J Neuropsychopharmacol*, 2015, pyv062, 査読あり
10. Ota Y, Ago Y, Tanaka T, Hasebe S, Toratani Y, Onaka Y, Hashimoto H, Takuma K, Matsuda T, Anxiolytic-like effects of restraint during the dark cycle in adolescent mice, *Behav Brain Res*, 2015, 284, 103-111, 査読あり
11. Onaka Y, Shintani N, Nakazawa T, Haba R, Ago Y, Wang H, Kanoh T, Hayata-Takano A, Hirai H, Nagata KY, Nakamura M, Hashimoto R, Matsuda T, Waschek JA, Kasai A, Nagayasu K, Baba A, Hashimoto H, CRTH2, a prostaglandin D2 receptor, mediates depression-related behavior in mice, *Behav Brain Res*, 2015, 284, 131-7, 査読あり

〔学会発表〕(計6件)

1. 三羽尚子、山口太郎、山田彩加、米山雅紀、尾中勇祐、荻田喜代一、騒音反復曝露による永久的聴力損失に対するクロロゲン酸の予防的効果、日本薬学会第137年会、2017年3月、仙台
2. 山口太郎、西山徳人、藤本頼門、米山雅紀、尾中勇祐、荻田喜代一、蝸牛外側壁のギャップ結合機能の破綻は音受容細胞である有毛細胞を障害する、日本薬学会第137年会、2017年3月、仙台
3. 尾中勇祐、新谷紀人、中澤敬信、吾郷由希夫、木野村元彦、田邊航、荻田喜代一、橋本均、腫瘍の形成に伴って認められる高次脳機能障害は腫瘍切除後も持続する、日本薬学会第137年会、2017年3月、仙台
4. 米山雅紀、山口太郎、尾中勇祐、荻田喜代一、成体海馬歯状回ニューロン障害後に現れる神経系幹・前駆細胞の増殖におけるコネキシン43の機能的役割、第90回日本薬理学会年会、2017年3月、長崎
5. 尾中勇祐、新谷紀人、中澤敬信、吾郷由希夫、木野村元彦、田邊航、荻田喜代一、橋本均、がん治療後に持続する高次脳機能障害におけるシクロオキシゲナーゼの関与、第130回日本薬理学会近畿部会、2016年11月
6. 尾中勇祐、木野村元彦、新谷紀人、平井博之、永田欽也、中村正孝、長谷部茂、永安一樹、吾郷由希夫、笠井淳司、早田敦子、中澤敬信、田熊一敞、松田敏夫、馬場明道、橋本均、がん治療後の脳機能障害の解明に有用な動物モデルの作製、第127回日本薬理学会近畿部会、岐阜、2015年6月、

〔図書〕(計0件)

なし

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

なし

○取得状況(計0件)

なし

〔その他〕

大阪大学大学院薬学研究科神経薬理学分野  
ホームページ：<http://molpharm.umin.jp/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

尾中 勇祐 (ONAKA, Yusuke)

摂南大学・薬学部・特任助教

研究者番号：90749003

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし

(4)研究協力者

なし