

令和元年6月25日現在

機関番号：37104

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10198

研究課題名(和文) ホスホジエステラーゼを標的とした精神疾患の新規治療法開発

研究課題名(英文) Development of novel therapeutic approaches focused on phosphodiesterases for psychiatric disorders

研究代表者

黒岩 真帆美 (Kuroiwa, Mahomi)

久留米大学・医学部・助教

研究者番号：20585690

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、うつ病の発症におけるDISC1遺伝子異常と青年期ストレスの影響および、ホスホジエステラーゼ(PDE)の阻害薬の新規うつ病治療薬としての可能性を検討した。DISC1遺伝子改変マウスおよび野生型マウスに隔離飼育ストレスを負荷すると、大脳皮質、海馬歯状回において、ドパミンD1受容体シグナルにわずかな差が認められた。野生型マウスは、エンリッチメント環境下での多頭飼育群ではPDE4阻害薬rolipram付加により歯状回のPKAシグナルが増強したが、個別飼育群ではPKAシグナルは減弱していた。これらの結果は、DISC1の変異と社会的ストレスがうつ病の発症に寄与することを示唆する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

個別飼育ストレスを負荷したDISC1遺伝子改変マウスは、遺伝因子と思春期の環境因子の相乗作用が発症要因であるとするtwo-hit-theoryに合致した有用な動物モデルである。本研究の結果より、うつ病の発症には遺伝的素因とストレスの負荷が関与していることが示唆され、うつ病のメカニズム解明の糸口となることが期待される。また、うつ病モデル動物を用いた研究およびストレス負荷を行う研究においては、対照群を含め、環境エンリッチメントを始めとする飼育環境の条件設定を厳密に行う必要があることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：Depression is one of the most common psychiatric disorders, but the etiology of depression is not fully understood. To address the role of adolescent stress in the development of depression, we combined a transgenic mouse model in which a mutation of DISC1, used as a genetic risk factor and adolescent social isolation stress. Both DISC1-mutant mice and wild-type mice with social isolation stress showed depression-like behaviors and showed modest differences in dopamine D1 receptor signaling in the prefrontal cortex and hippocampal dentate gyrus. In addition, in the wild-type mice with environmental enrichment showed enhanced effects of the PDE4 inhibitor rolipram on PKA signaling in the dentate gyrus, however, wild-type mice with social isolation stress showed attenuation of the effects of rolipram. These results suggest that the mutation of DISC1 and social isolation stress may contribute to the development of depression.

研究分野：中枢薬理

キーワード：ホスホジエステラーゼ ドーパミン うつ病

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

DISC1(Disrupted-In-Schizophrenia) は神経細胞の増殖や突起伸展など脳神経発達過程に重要な分子である。DISC1 遺伝子改変 (変異型 DISC1 過剰発現) マウスを、ヒトの思春期に相当する期間中 1 匹ずつ隔離飼育を行い心理的なストレスを負荷すると、ドーパミン D2 受容体の発現量増加がみられ、行動学的にも統合失調症様の行動異常を呈するため、ヒトにおいて、遺伝因子と思春期の環境因子の相乗作用が発症要因であるとする two-hit-theory に合致した非常に有益な統合失調症の動物モデルである(Niwa et al., Science, 2013)。

また、DISC1 遺伝子変異マウスは、ストレスホルモンである血中グルココルチコイド (ヒトではコルチゾール) の増加やうつ病様の行動異常を呈し、この行動異常はグルココルチコイド受容体拮抗薬により抑制されることから、評価系を変えることにより、うつ病の病態モデル動物として解釈することも可能である (図 1)。

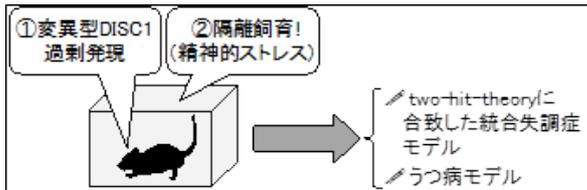


図 1. 変異型 DISC1 過剰発現マウスは隔離飼育を行うと、統合失調症およびうつ病の病態を示す

申請者らはこれまでに、ドーパミン D1 受容体アゴニストが抗うつ薬の治療効果を増強することを見だし、現在、ドーパミン D1 受容体をターゲットとした薬物と抗うつ薬との併用療法の開発を行っている。また、基礎研究・臨床試験ともに、前頭前皮質のドーパミン D1 受容体シグナルの活性化が統合失調症の陰性症状・認知機能障害を改善する可能性が数多く報告されている。したがって、ドーパミン D1 受容体シグナルは、統合失調症およびうつ病の治療ターゲットとなる可能性が高い。

しかしながら、現在臨床応用可能なドーパミン D1 受容体アゴニストは存在しないことから、創薬研究の候補とすることは困難である。そこで我々はサイクリック AMP (cAMP) 分解酵素であるホスホジエステラーゼ (PDE) に着目した。PDE は、細胞内 cAMP/PKA シグナル伝達を制御する重要な役割を担っている。

cAMP はドーパミン D1 受容体シグナルの下流に位置する分子であることから、PDE の阻害はドーパミン D1 受容体シグナルと類似した細胞内シグナルを発生させることが期待される。

PDE 阻害薬はすでに臨床応用されているものもあり、基礎研究の成果から臨床応用への発展も現実性がある。また、PDE には 11 種類のサブタイプがあり、中枢神経系において異なる局在を示すことが知られていることから、精神疾患の病態に関連の深い PDE サブタイプならびに治療効果が高く副作用発現の可能性の低い PDE サブタイプを特定することで新たな精神疾患治療薬のターゲット候補として大変重要である。したがって、本申請課題では、DISC1 遺伝子の異常と精神疾患との関連性を精査するとともに、治療効果が高く安全性の高い PDE サブタイプを特定し、PDE 阻害薬を用いた新たな精神疾患治療法の開発を行う。

2. 研究の目的

DISC1(Disrupted-In-Schizophrenia) 遺伝子異常は統合失調症やうつ病等に共通するリスク因子と考えられている。申請者らはこれまでに、DISC1 遺伝子改変マウスの脳内で、ドーパミン D1 受容体シグナルを中心に、統合失調症やうつ病の病態を説明し得る異常を見いだしている。さらに、臨床応用可能な作用薬が存在しない D1 受容体に代わり、その下流の cAMP/PKA シグナルを制御する cAMP 分解酵素ホスホジエステラーゼ(PDE)の臨床応用可能な阻害薬を応用し、いち早く臨床応用に直結した新規治療法の開発を行っている。本申請課題では、(1) DISC1 遺伝子の異常と精神疾患との関連性を精査するとともに、(2) PDE サブタイプの分布と機能特性を解析し、臨床応用可能かつ有効性・安全性の高い PDE 阻害薬を用いた新たな精神疾患治療法の開発を目指した。

3. 研究の方法

(1) 精神疾患モデルマウスの作成および行動解析

DISC1 遺伝子改変マウスおよび慢性拘束ストレス負荷マウスのそれぞれに、個別飼育ストレスの有無を追加した病態モデル動物を作成する。その後、赤外線センサーによる自発運動量測定 (統合失調症の陽性症状の評価) プレパルスインヒビションテスト (統合失調症の認知機能障害の評価) オブジェクトレコグニションテスト (統合失調症の認知機能障害の評価)

新奇環境摂食抑制試験 (Novelty-Suppressed Feeding test) (不安状態の評価) 尾懸垂試験 (Tail Suspension test) (抑うつ状態の評価) 強制水泳試験 (抑うつ状態の評価) オープンフィールド試験 (不安の評価) 高架式十時迷路 (不安の評価、衝動性の評価) の行動実験バッテリーを行い、統合失調症およびうつ病モデルマウスとしての妥当性を解析した。

(2) 生化学的・分子的解析

マウスの大脳皮質 (認知機能)、海馬歯状回 (うつ状態)、側坐核 (薬物依存)、線条体 (運動機能) を分離し、mRNA レベル、タンパクレベルの解析を行い、行動実験の裏付けとなる機序の解明を

行った。

また、各種 PDE 阻害薬に対する種々のシグナルの反応性を解析し、異常をきたしている PDE サブタイプの特定制ならびに治療ターゲットとなる PDE サブタイプの特定制を、ウエスタンブロット法を用いて行った。

4. 研究成果

DISC1(Disrupted-In-Schizophrenia 1)遺伝子異常は、統合失調症やうつ病のリスク因子と考えられている。我々はこれまでに、抗うつ薬の作用発現に海馬歯状回のドパミン D1 受容体シグナルの増強が重要であることが明らかとした。したがって本研究では、DISC1 遺伝子改変(変異型 DISC1 過剰発現)マウスのうつ病モデルとしての可能性を検討するとともに、臨床応用可能な作用薬が存在しないドパミン D1 受容体に代わりホスホジエステラーゼ(PDE)の阻害薬の新規うつ病治療薬としての可能性を検討した。

DISC1 遺伝子改変マウスおよびその野生型マウスを、ヒトの思春期に相当する生後 5 週齢から 3 週間、隔離飼育によるストレスを負荷すると、大脳皮質、海馬歯状回においてドパミン D1 受容体シグナルに差があるような知見が得られた。

環境エンリッチメントな飼育条件(身を隠せる小屋をに設置)または、個別飼育(ストレス環境)で飼育したところ、個別飼育群では、野生型マウス及び DISC1 遺伝子改変マウスともうつ様行動を示した。

野生型マウスにおいて、歯状回スライスに PDE4 阻害薬 rolipram 付加を行ったところ、エンリッチメント環境下で飼育していた多頭飼育群では PKA シグナルが増強したが、個別飼育群では PKA シグナルは減弱していた。一方、従来の飼育環境で飼育していたマウスでは、多頭飼育群と個別飼育群との間で rolipram 付加による PKA シグナルの変化に差は認められなかった。

本研究により、DISC1 遺伝子改変マウスは環境ストレスを負荷により、野生型マウスとの差異はわずかではあるが、うつ様行動を呈することが明らかとなった。より顕著な表現型を検出するためには、対照群を含め、環境エンリッチメントを始めとする飼育環境の条件設定を厳密に行う必要があることが明らかとなった。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 3 件)

Hikida T, Morita M, Kuroiwa M, Macpherson T, Shuto T, Sotogaku N, Niwa M, Sawa A, Nishi A., Adolescent psychosocial stress enhances sensitization to cocaine exposure in genetically vulnerable mice., *Neurosci Res.*, 査読有, 2019 Mar 1. pii: S0168-0102(19)30021-5.

doi: 10.1016/j.neures.2019.02.007.

Shuto Takahide, Kuroiwa Mahomi, Sotogaku Naoki, Kawahara Yukie, Oh Yong-Seok, Jang Jin-Hyeok, Shin Chang-Hoon, Ohnishi Yoshinori N., Hanada Yuuki, Miyakawa Tsuyoshi, Kim Yong, GreengardPaul, Nishi Akinori, Obligatory roles of dopamine D1 receptors in the dentate gyrus in antidepressant actions of a selective serotonin reuptake inhibitor, fluoxetine, *Molecular Psychiatry*, 査読有

doi: 10.1038/s41380-018-0316-x

Nishi A, Matamales M, Musante V, Valjent E, Kuroiwa M, Kitahara Y, Rebholz H, Greengard P, Girault JA, Nairn AC., Glutamate Counteracts Dopamine/PKA Signaling via Dephosphorylation of DARPP-32 Ser-97 and Alteration of Its Cytonuclear Distribution., *J Biol Chem.* 2017 Jan 27;292(4):1462-1476, 査読有

doi: 10.1074/jbc.M116.752402.

[学会発表](計 5 件)

Takahide Shuto, Mahomi Kuroiwa, Naoki Sotogaku, Yukie Kawahara, Yoshinori Ohnishi, Yuuki Hanada, Akinori Nishi

Dopamine D1 receptor activation in the dentate gyrus enhances antidepressant effects of an SSRI, fluoxetine in a mouse model of depression

第 48 回北米神経科学会議(国際学会) 2018 年

杵山 慶太、黒岩 真帆美、首藤 隆秀、福田 孝一、西 昭徳

領域別線条体におけるドパミンシグナル解析

第 71 回日本薬理学会西南部会 2018 年

Takahide Shuto, Mahomi Kuroiwa, Naoki Sotogaku, Yukie Kawahara, Yoshinori Ohnishi, Yuuki Hanada, Akinori Nishi

Dopamine D1 receptor activation in the dentate gyrus enhances antidepressant effects of SSRI

第 18 回国際薬理学・臨床薬理学会議(国際学会) 2018 年

黒岩 真帆美、杵山 慶太、首藤 隆秀、西 昭徳

飼育環境が及ぼすストレス応答の変化

第 70 回日本薬理学会西南部会 2017 年
Mahomi Kuroiwa, Yoauke Kitahara and Akinori Nishi
Glutamate counteracts dopamine/PKA signaling via nuclear sequestration of inactive
DARPP-32
第 90 回日本薬理学会 2017 年

〔図書〕計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：西 昭徳
ローマ字氏名：(Nishi, Akinori)
所属研究機関名：久留米大学
部局名：医学部
職名：教授
研究者番号 (8 桁)：50228144

研究分担者氏名：首藤 隆秀
ローマ字氏名：(Shuto, Takahide)
所属研究機関名：久留米大学
部局名：医学部
職名：講師
研究者番号 (8 桁)：70412541

研究分担者氏名：大西 克典
ローマ字氏名：(Ohnishi, Yoshinori)
所属研究機関名：久留米大学
部局名：医学部
職名：助教
研究者番号 (8 桁)：10626865

(2)研究協力者

研究協力者氏名：疋田 貴俊

ローマ字氏名：(Hikida, Takatoshi)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。