

平成23年5月17日現在

機関番号：13501

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2009～2010

課題番号：21890091

研究課題名（和文）

エピジェネティクス機構に基づいたグリア細胞における抗精神病薬の作用機序の解明

研究課題名（英文）

Epigenetic mechanisms of antipsychotic drugs in glial cells

研究代表者

三宅 邦夫 (MIYAKE KUNIO)

山梨大学・医学工学総合研究部・助教

研究者番号：60550712

研究成果の概要（和文）：近年、精神疾患の病態にグリア（神経膠）細胞が関与していることが示唆されてきたが、詳細なメカニズムは不明である。本研究で我々は、抗精神病薬がグリア細胞の増殖を促進すること、ヒストン脱アセチル化阻害剤との同時投与によりヒストンのアセチル化を変化させること、炎症反応に対して抑制する効果があることを発見した。これらの結果はグリア細胞を標的とした新たな薬剤の開発につながることを期待できる。

研究成果の概要（英文）：It has been suggested that glial cells are involved in pathological condition of mental disorder. However, the details of mechanism are still unknown. We showed here that treatment with an antipsychotic drug influences glial cell proliferation and changes the pattern of histone acetylation by coadministration of sodium butyrate and inhibits the LPS-induced inflammatory response. These results can expect to lead to the development of new antipsychotic drugs as a target for glial cells.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	980,000	294,000	1,274,000
2010年度	950,000	285,000	1,235,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,930,000	579,000	2,509,000

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：精神疾患、抗精神病薬、エピジェネティクス、グリア細胞

1. 研究開始当初の背景

（1）ヒストンの脱アセチル化阻害剤は神経細胞のヒストンアセチル化を亢進させ、精神疾患の症状改善に効果があることがわか

ってきた。

（2）抗精神病薬（スルピリド、クロザピン）が GABA 合成酵素の 1 つである GAD67 遺伝

子のプロモーターの脱メチル化やヒストンのアセチル化を誘導すること、代表的な抗うつ薬イミプラミンが神経栄養因子であるBDNF遺伝子のエピジェネティックな異常を改善させる作用を有することが報告された。

(3) 一方で近年、統合失調症患者とグリア細胞(アストロサイト)機能の異常が関与していることが報告されている。抗精神病薬の標的となる受容体(ドーパミンD4, 5-HT2A)が神経細胞だけでなく、グリア細胞にも発現している事が明らかにされている。

2. 研究の目的

アストロサイトにおける「抗精神病薬の影響」、「エピジェネティクス機構の関与」を明らかにすること。

3. 研究の方法

様々な抗精神病薬の中から定型抗精神病薬であるスルピリド、非定型抗精神病薬であるリスペリドン及びクエチアピンを用いて

(1) 初代培養アストロサイトに各種抗精神病薬を24時間処理後、細胞増殖活性(MTT)アッセイ及びカルセイン・プロピウムイオダイド染色を行い、細胞増殖能および細胞死効果の検討を行った。また各種抗精神病薬と同時に0.1~0.5 mMの過酸化水素水を添加し、24時間後にMTTアッセイを行い、細胞死抑制効果を検討した。

(2) 初代培養アストロサイトに各種抗精神病薬およびヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)阻害剤であるバルプロ酸(VPA)、酪酸ナトリウム(SB)を24時間処理後、蛍光標識ペプチドを用いてヒストン脱アセチル化酵素の活性を蛍光マイクロプレートリーダーで測定した。

(3) 初代培養アストロサイトに抗精神病薬スルピリドとHDAC阻害剤SBを24時間添

加後、2,3-Diaminonaphthaleneを用いて培養上清中のNO量を測定した。また24時間処理後のアストロサイトを回収し、ウェスタンブロッティング法によりiNOSの発現量を測定した。

4. 研究成果

(1) 生後1日目のマウス的大脑皮質より作製した初代培養アストロサイトに各種抗精神病薬を24時間添加した後、MTTアッセイを行った(図1)。その結果、リスペリドンに細胞増殖を促進する効果が見られた一方でほかの2つには差は見られなかった。また、過酸化水素による酸化ストレスに対する抗精神病薬の細胞死抑制効果も測定したが有意な差はなかった。

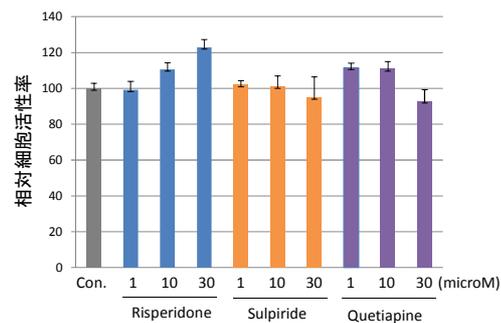


図1 細胞生存活性

(2) 抗精神病薬によるヒストンのアセチル化変化を明らかにするために以下の実験を行った。

① (1)と同様に抗精神病薬で処理したアストロサイトを用いて、HDAC活性を測定した(図2)。その結果、コントロールと比較してどの抗精神病薬にも有意にヒストンのアセチル化を変化させる作用は見られなかった。

② HDACを抑制する効果が報告されているVPAと抗精神病薬を同時添加すると、ス

ルピリドにおいては脱アセチル化活性効果が促進された (図 2)。

- ③ 同様に HDAC を抑制する効果が報告されている SB と同時添加するとスルピリド、クエチアピンにおいて脱 HDAC 活性が抑制された (図 2)。

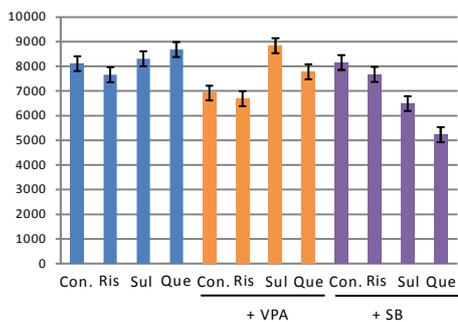


図 2 ヒストン脱アセチル化活性測定

これらの結果は、抗精神病薬単独ではヒストンのアセチル化を変化させることはないが、HDAC 阻害剤との同時投与により HDAC 活性を相乗的に変化させる効果があることがわかった。

(3) アストロサイトにリポ多糖(LPS)を添加することにより炎症反応が惹起されることが知られている。この炎症反応系を用いて、抗精神病薬による炎症反応抑制効果を一酸化窒素 (NO) の産生量を測定し、検討した。

- ① その結果、スルピリド単独では LPS 誘導 NO 産生量に変化はなかったが、SB との同時投与により有意に NO 産生量を減少させることが分かった (図 3)。

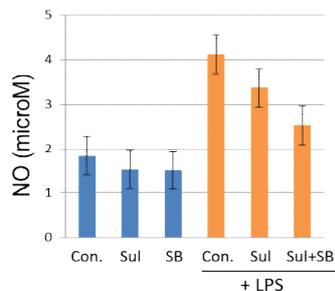


図 3 NO 産生量

- ② 誘導性 NO 合成酵素 (iNOS) の発現量をウェスタンブロッティングにより解析した結果、SB とスルピリドの同時投与で有意に iNOS の発現が減少していた (図 4)。

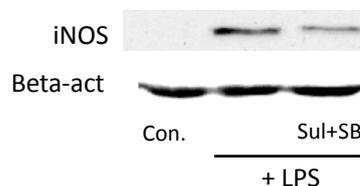


図 4 iNOS の発現量

これらの結果は、精神疾患患者脳でみられる慢性的な炎症反応において抗精神病薬が抑制に働いていることが示唆される。

(4) 現在、神経細胞の機能に基づいた抗精神病薬が開発され、使用されている。しかしながら近年、アストロサイトを含むグリア細胞も脳の機能に積極的に関与していることが報告され、グリア細胞における抗精神病薬はほとんど注目されていなかった。本研究で我々は、抗精神病薬のなかにはグリア細胞の増殖やヒストン修飾を変化させる作用があること、炎症反応を抑制する作用があることを見出した。これらの発見はグリア細胞機能に基づいた新しい抗精神病薬の開発につながることを期待される。

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)

[雑誌論文] (計 1 件)

- ① Kubota T, Miyake K, Hirasawa T, Nagai K, Koide T. Novel etiological and therapeutic strategies for neurodiseases: epigenetic understanding of gene-environment interactions. J Pharmacol Sci 査読無、113 巻、2010、3-8

[学会発表] (計 2 件)

- ① 三宅邦夫、レット症候群責任蛋白質 MeCP2 の新規標的シナプス関連分子の同定、第 33 回日本分子生物学会、2010 年 1 月 8 日、神戸国際会議場
- ② 三宅邦夫 レット症候群責任蛋白質 MeCP2 の新規標的遺伝子の探索、第 4 回日本エピジェネティクス研究会、2010 年 5 月 28 日、米子市文化ホール

[図書] (計 3 件)

- ① 三宅邦夫、久保田健夫、精神疾患のエピジェネティクス：メチル化 CpG 結合蛋白質 (MeCP2) 研究の最近の動向、先端医学社、2011、6-11
- ② Miyake K, Hirasawa T, Koide T, Kubota T. Epigenetics in autism and other neurodevelopmental diseases. Molecular Mechanism of Neurodegenerative diseases. Landes Bioscience/Springer 2011、in press
- ③ 三宅邦夫、久保田健夫：エピジェネティクス。増刊号：遺伝子診療学-遺伝子診断の進歩とゲノム治療の展望、日本臨床、2010、pp87-92

[その他]

ホームページ等

<http://www.epigenetmed.com/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

三宅 邦夫 (MIYAKE KUNIO)
山梨大学・医学工学総合研究部・助教
研究者番号：60550712

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし