

令和元年6月21日現在

機関番号：33919

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K08218

研究課題名(和文) 自発的運動によって活性化される脳内分子のレジリエンス亢進作用の解明と応用研究

研究課題名(英文) Attenuation of brain dysfunction by enhancement of the endogenous system in mice.

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) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本課題では、ストレスの神経発達に対する影響を基礎薬学的に解明することにより、ヒトにおける疾患予防や治療に生かす方略を考案するために行った。これまで実施してきた自発的運動による発現分子解析およびストレス負荷後の病態解析をもとに標的分子を選定した。その結果、内因性のペプチドによるストレス適応機能増強機能だけでなく、アセチルコリン<sub>7</sub>受容体刺激による前頭皮質機能低下改善作用を見出した。今後はこれらの医薬品への応用を検討したい。

研究成果の学術的意義や社会的意義

主に、発達期に受けたストレスが、出生成熟後に、衝動性の亢進や注意機能障害などの行動障害を誘発することをマウスを用いて再現した。その障害には、前頭皮質における長期増強およびグルタミン神経機能低下が関与していることを発見した。この障害の治療薬として、現在臨床で使用されているガラントミンが有効であることを見出した。

研究成果の概要(英文)：In this study, I tried to develop new strategies for preventing and treating psychiatric diseases by analyzing the stress-induced behavioral changes in mice. Embryonic nicotine exposure through the dam produced attention deficits and enhanced impulsivity at adolescent period. I found that an endogenous peptide and acetylcholine<sub>7</sub> receptor agonist were useful for the animal model with those behaviors. I believe that these results will help to treat the psychiatric patients.

研究分野：神経精神薬理学

キーワード：ストレス 内因性システム 脳機能障害

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

### 1. 研究開始当初の背景

より健康に、かつ心豊かに過ごすことは、少子高齢社会となった我が国において最も重要なことである。医療費等で国家予算の 30%以上を占めるようになり、高齢患者への治療や介護に対する支出が最も多いが、生産者人口の精神疾患患者に対する治療費も年々増加している。特に 20~40 歳代のストレスによるうつ病や不安障害などによって社会生活すらままならず、凶悪事件を起こすなど極めて憂慮すべき状況である。

これまでに、統合失調症様行動を示すマウスを、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、その飼育遊具のうち、回転かごのみを設置したケージ内で同様に飼育したところ、やはり症状が緩解された。その際、健常マウスの脳内(前頭皮質および海馬)でアレイ解析したところ、105 種類の分子が 5 倍以上増加し、そのうちの 1 つのオピオイドペプチドの Dynorphin A を連続投与すると、ストレス障害の発症が抑制された。

### 2. 研究の目的

そこで本課題では、増加した分子(群)について単独およびクラスター解析を行い、それらのレジリエンス機能を解明することによって精神疾患の予防や治療へ応用できるか基礎研究を行った。中でもアセチルコリン受容体に着目し、検討を進めた。

### 3. 研究の方法

実験には、妊娠 13 日目の C57BL/6J JmsSlc 系雌性マウス((日本 SLC, 静岡)を搬入後、室温  $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度  $55 \pm 5\%$ 、7:00-19:00 (明期)で飼育した。ニコチン((-)-Nicotine, 0.2 mg/mL, Sigma-Aldrich, USA)を 2% サッカリン溶液(Saccharin, 和光純薬工業, 大阪)に溶解し、妊娠 14 日目(E14)より出生日(P0)まで自由摂取させた(ニコチン暴露群:PNE)。対照群には 2% サッカリン水を同様に自由摂取させた(コントロール群:PSE)。出生確認後は両群とも常水を与えた。仔マウスは 4 週齢で離乳後、雌雄別に飼育し、行動薬理学検討には 5 週齢以降のマウスを用いた。なお、本研究内容については、名城大学動物実験委員会の承認を得て実施した(PE-11(2015-18 年度))。

**断崖絶壁試験**：ガラス製 1 L ビーカー(直径 11 cm, 高さ 15 cm)を逆さに置き、ビーカー中央部の照度を 1 lux に設定した。マウスを静かにビーカーの中央に置き、飛び降りるまでの時間(jumping latency)を測定(最大観察時間 5 分)し、飛び降りたマウス個体数の累積数の割合(cumulative jumping events (%))を算出した。ガラントミン(1 mg/kg; Gal)は 0.9%生理食塩液に溶解し、試験 30 分前に皮下投与した。

**物体随伴性注意試験**：ポリ塩化ビニル製箱(L60 x W40 x H22 cm)を訓練試行用区画(L40 x W40 cm)と保持試行用区画(L20 x W40 cm)に仕切った。装置内照度を 15 lux に設定した。試験は訓練及び保持の 2 行程に分けて行った。まず、マウスを訓練試行用区画及び保持試行用区画の順にそれぞれ 6 分間探索させ、装置環境に馴化させた。その直後に訓練試行として訓練試行用区画に形・色の異なる 5 つの積み木を等間隔に置き、マウスを 3 分間自由に探索させた。5 つの積み木のうち任意の 2 つに対する探索時間の割合をそれぞれ算出し、訓練試行の exploratory behavior (%)とした。訓練試行終了直後に、保持試行として保持試行用区画に訓練試行で使用した積み木 1 つと新規の積み木 1 つを置き、同様に 3 分間自由に探索させ、保持試行の exploratory behavior (%)を算出した。ガラントミン(1 mg/kg; Gal)は 0.9%生理食塩液に溶解し、馴化 30 分前に皮下投与した。

### 4. 研究成果

衝動性の亢進に対するガラントミンの作用：5分間の断崖回避試験における Cumulative jumping events (%) は、PSE/Sal 群で 40 %であったが、PNE/Sal 群では 80 %で 2 倍となり、胎生期ニコチン暴露による衝動性の亢進が確認できた。そのモデルマウスにガラントミンを単回投与すると (PNE/Gal 群) 衝動性の亢進は有意に抑制された (図 1)。また、ガラントミンの作用は、methyllycaconitine (0.3 mg/kg) の併用投与によって抑制された (データ示さず)。

注意機能の低下に対するガラントミンの作用：物体随伴性注意試験の訓練試行における exploratory behavior (%) は 4 群間で差は認められなかったことから、物体に対する興味やモチベーションは同等であると考えられる (データ示さず)。保持試行における exploratory behavior (%) は PSE/Sal 群では約 67%であったが、PNE/Sal 群では約 58%で、胎生期ニコチン暴露による注意機能障害が確認できた。ガラントミンを急性処置すると (PNE/Gal 群) その注意機能障害は有意に抑制された (図 2)。また、ガラントミンの作用は、methyllycaconitine (0.3 mg/kg) の併用投与によって抑制された (データ示さず)。

今回の実験で、断崖回避試験及び物体随伴性注意試験で顕著に観察される衝動性の亢進及び注意機能障害が観察され、これらに対し、ガラントミンは有効性を示した。その作用には  $\alpha 7$  nAChR を介している可能性が示唆された。特に AD/HD の衝動性や注意機能は、前頭皮質の DA 作動性神経系が重要な役割を果たしている (1)。我々が既に報告しているように、ガラントミンは nAChR を介して DA 遊離を調節する機能を有している (2)。したがって、今回のガラントミンの作用も前頭皮質における nAChR-DA 作動性神経系が関与していると推察される。

ごく最近、アルツハイマー病の初期に認められる注意障害に対し、ガラントミンが有効であると報告された (3)。また、予備的報告ではあるが、喫煙患者の Go No-Go 課題で観察される衝動性の亢進に対しても、ガラントミンが緩解する可能性が報告されている (4)。

以上のことから、 $\alpha 7$  nAChR を刺激することが衝動性の亢進や注意機能障害に有効であることが明らかとなった。また、ガラントミンがそのような障害の治療薬となりうる可能性が示唆された。

## 参考文献

- (1) Brennan AR, Arnsten AF. *Ann N Y Acad Sci.* 2008;1129: 236-245.
- (2) Wang D et al. *Neuropsychopharmacology.* 2007; 32(6): 1261-1271.
- (3) Park JJ et al. *Geriatr Gerontol Int.* 2017; 17(10):1661-1666.
- (4) Sofuoglu M et al. *Psychopharmacology.* 2012; 224(3):413-420.

## 5 . 主な発表論文等

[ 雑誌論文 ] ( 計 8 件 )

1. Kazuya Toriumi, Junko Tanaka, Takayoshi Mamiya, Tursun Alkam, Hyoung-Chun Kim, Atsumi Nitta, Toshitaka Nabeshima.  
Shati/Nat8l knockout mice show behavioral deficits ameliorated by atomoxetine and methylphenidate. *Behav Brain Res.* 339, 207-214, 2018. ( 査読有 )  
DOI: 10.1016/j.bbr.2017.11.040.
2. Tursun Alkam, Takayoshi Mamiya, Nami Kimura, Aya Yoshida, Daisuke Kihara, Yuki Tsunoda, Yuki Aoyama, Masayuki Hiramatsu, Hyoung-Chun Kim, Toshitaka Nabeshima.  
Prenatal nicotine exposure decreases the release of dopamine in the medial frontal cortex and induces atomoxetine-responsive neurobehavioral deficits in mice. *Psychopharmacology (Berl).* 234 (12) 1853-1869, 2017. ( 査読有 )  
DOI: 10.1007/s00213-017-4591-z.

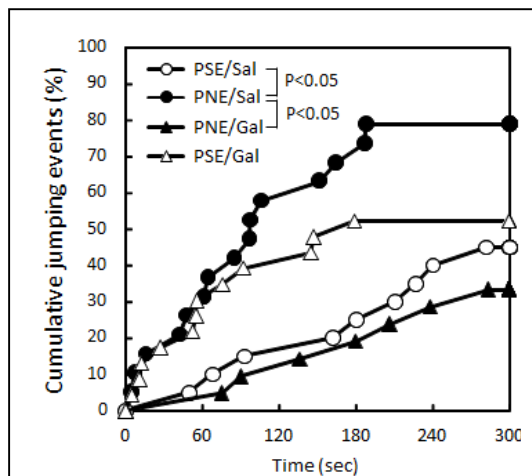


図1 衝動性の亢進に対するガラントミンの作用  
PSE; Prenatal saccharin exposure, PNE: Prenatal nicotine exposure, Gal; Galantamine (1 mg/kg), Sal; Saline. Gal was administered subcutaneously 30 min before the test.

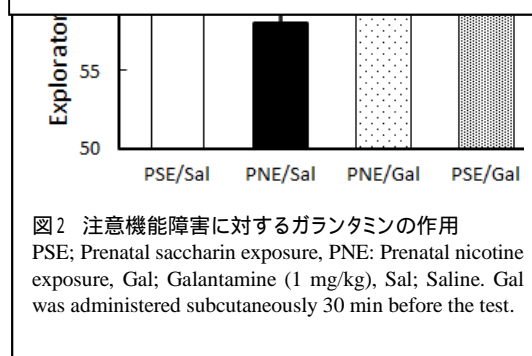


図2 注意機能障害に対するガラントミンの作用  
PSE; Prenatal saccharin exposure, PNE: Prenatal nicotine exposure, Gal; Galantamine (1 mg/kg), Sal; Saline. Gal was administered subcutaneously 30 min before the test.

3. Takayoshi Mamiya, Hiroshi Oda, Shota Tanase, Tohya Morishita, Yuki Tsuruoka, Daisuke Ibi, Masayuki Hiramatsu.  
Gene expression analysis in the prefrontal cortex of mice exposed to psychosocial stress.  
J. Res. Inst. Meijo Univ. 16, 19-24, 2017. ( 査読有 )
4. Takayoshi Mamiya, Satomi Adachi, Masayuki Hiramatsu.  
Effects of [Gly<sup>14</sup>]-humanin on spatial attention in mice.  
J. Res. Inst. Meijo Univ. 15, 35-39, 2016. ( 査読有 )
5. Masahide Fukada, Atsuo Nakayama, Takayoshi Mamiya, Tso-Pang Yao, Yoshiharu Kawaguchi.  
Dopaminergic abnormalities in Hdac6-deficient mice.  
Neuropharmacology. 110, 470-479, 2016. ( 査読有 )  
DOI: 10.1016/j.neuropharm.2016.08.018.
6. Kazuya Toriumi, Mika Oki, Eriko Muto, Junko Tanaka, Akihiro Mouri, Takayoshi Mamiya, Hyoung-Chun Kim, Toshitaka Nabeshima.  
Prenatal phencyclidine treatment induces behavioral deficits through impairment of GABAergic interneurons in the prefrontal cortex.  
Psychopharmacology (Berl). 233, 2373-2381, 2016. ( 査読有 )  
DOI: 10.1007/s00213-016-4288-8.
7. Kazuya Toriumi, Takayoshi Mamiya, Ziyu Song, Tatsuki Honjo, Hiroyuki Watanabe, Junko Tanaka, Mizuki Kondo, Akihiro Mouri, Hyoung-Chun Kim, Atsumi Nitta, Takeshi Fukushima, Toshitaka Nabeshima.  
Deletion of SHATI/NAT8L decreases the N-acetylaspartate content in the brain and induces behavioral deficits, which can be ameliorated by administering N-acetylaspartate.  
Eur Neuropsychopharmacol. 25(11) 2108-17, 2015. ( 査読有 )  
DOI:10.1016/j.euroneuro.2015.08.003.
8. Yuki Aoyama, Kazuya Toriumi, Akihiro Mouri, Tomoya Hattori, Eriko Ueda, Akane Shimato, Nami Sakakibara, Yuka Soh, Takayoshi Mamiya, Taku Nagai, Hyoung-Chun Kim, Masayuki Hiramatsu, Toshitaka Nabeshima, Kiyofumi Yamada.  
Prenatal nicotine exposure impairs the proliferation of neuronal progenitors, leading to fewer glutamatergic neurons in the medial prefrontal cortex.  
Neuropsychopharmacology. 41(2) 578-89, 2015. ( 査読有 )  
DOI:10.1038/npp.2015.186.

[学会発表](計19件)

1. 竹河里帆、間宮隆吉、木股伶子、加藤俊佑、伊藤 愛、衣斐大祐、鍋島俊隆、平松正行  
胎生期ニコチン曝露は、仔の行動変化を引き起こす：脳内サイトカインの関与  
第92回日本薬理学会年会（大阪）2019年3月16日
2. 木股伶子、間宮隆吉、竹河里帆、伊藤 愛、衣斐大祐、鍋島俊隆、平松正行  
胎生期ニコチン曝露による仔の行動変化：脳内ケモカインの関与  
第92回日本薬理学会年会（大阪）2019年3月16日
3. 伊藤愛、間宮隆吉、加藤俊佑、森美奈、衣斐大祐、鍋島俊隆、平松正行  
胎生期ニコチン曝露におけるマウス脳内神経伝達物質量レベルと行動障害との関連  
第2回日本精神薬学会総会・学術集会（名古屋）2018年9月15日
4. Takayoshi Mamiya, Shota Tanase, Maki Hada, Shunsuke Kato, Shino Takeuchi, Daisuke Ibi, Toshitaka Nabeshima, Masayuki Hiramatsu  
Adolescent mouse hippocampal function was impaired by prenatal nicotine exposure  
18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (WCP2018) (Kyoto) 2018年7月2日
5. 間宮隆吉、小田浩史、森下憧也、棚瀬将太、長谷川裕也、衣斐大祐、平松正行  
社会心理的ストレス負荷が社会性行動に与える影響  
第59回日本心身医学会総会ならびに学術講演会（名古屋）2018年6月8日
6. 加藤俊佑、間宮隆吉、伊藤愛、棚瀬将太、衣斐大祐、鍋島俊隆、平松正行  
胎生期ニコチン曝露が前頭前皮質領域の長期増強におよぼす影響とガラントミンの作用

第 133 回日本薬理学会近畿部会（広島）2018 年 6 月 1 日

7. 伊藤愛、間宮隆吉、加藤俊佑、森美奈、衣斐大祐、鍋島俊隆、平松正行  
胎生期ニコチン曝露誘発行動障害に対するガラントミンの作用：ドパミン D<sub>1</sub> 受容体の関与  
第 132 回日本薬理学会近畿部会（大阪）2017 年 11 月 24 日

8. 小林芽以、間宮隆吉、新福ゆい、唐亜平、衣斐大祐、鍋島俊隆、平松正行  
不安障害モデルマウスにおける社会心理的ストレスの影響  
生体機能と創薬シンポジウム 2017（京都）2017 年 8 月 24 日

9. 中嶋友女、間宮隆吉、唐亜平、衣斐大祐、鍋島俊隆、平松正行  
コレシストキニン受容体の過剰発現が潜在学習機能に及ぼす影響  
第 63 回（平成 29 年度）日本薬学会東海支部総会・大会（岐阜）2017 年 7 月 10 日

10. 小林芽以、間宮隆吉、新福ゆい、唐亜平、衣斐大祐、鍋島俊隆、平松正行  
社会心理的ストレスがコレシストキニン受容体過剰発現マウスの行動に及ぼす影響  
第 63 回（平成 29 年度）日本薬学会東海支部総会・大会（岐阜）2017 年 7 月 10 日

11. 新福ゆい、間宮隆吉、小林芽以、唐亜平、衣斐大祐、鍋島俊隆、平松正行  
遺伝子改変動物を用いた新規 PTSD モデル動物作製の試み  
第 63 回（平成 29 年度）日本薬学会東海支部総会・大会（岐阜）2017 年 7 月 10 日

12. 間宮隆吉、Anu Joseph、Mingxi Tang、Qian Chen、LingLing Yang、Jianwei Jiao、Na Yu、  
Ya-Ping Tang、鍋島俊隆、平松正行  
遺伝子改変マウスを用いた PTSD モデルの作製  
第 17 回日本トラウマティック・ストレス学会（東京）2017 年 6 月 10 日

13. 間宮隆吉、加藤俊祐、伊藤 愛、森 美奈、大谷駿人、野口七瀬、竹内詩乃、棚瀬将太、衣  
斐大祐、鍋島俊隆、平松正行  
胎生期喫煙モデルマウスの行動障害に対するガラントミンの作用  
第 137 回日本薬学会年会（仙台）2017 年 3 月 26 日

14. 間宮隆吉、棚瀬将太、羽田麻希、竹内詩乃、青山雄紀、衣斐大祐、鍋島俊隆、平松正行  
ニコチン摂取が前頭皮質/海馬の機能を抑制する：胎生期ニコチン曝露の影響  
第 51 回日本アルコール・アディクション医学会学術総会（東京）2016 年 10 月 7 日

15. Takayoshi Mamiya, Shota Tanase, Yuki Aoyama, Kazuya Toriumi, Akihiro Mouri, Tomoya  
Hattori, Eriko Ueda, Akane Shimato, Nami Sakakibara, Yuka Soh, Taku Nagai, Hyoung-  
Chun Kim, Kiyofumi Yamada, Masayuki Hiramatsu, Toshitaka Nabeshima  
Prenatal nicotine exposure impairs the proliferation of neuronal progenitors, leading  
to fewer glutamatergic neurons in the medial prefrontal cortex.  
30th The International College of Neuropsychopharmacology (CINP) World Congress (Seoul,  
South Korea) 2016 年 7 月 5 日

16. 間宮隆吉、棚瀬将太、羽田麻希、竹内詩乃、青山雄紀、衣斐大祐、平松正行、鍋島俊隆  
胎生期ニコチン曝露が前頭前皮質のグルタミン酸作動性神経発達に及ぼす影響  
第 46 回日本神経精神薬理学会年会（ソウル，大韓民国）2016 年 7 月 3 日

17. 間宮隆吉、棚瀬将太、羽田麻希、衣斐大祐、平松正行、鍋島俊隆  
胎生期ニコチン曝露が成熟期の学習記憶機能に対する影響  
第 89 回日本薬理学会年会（横浜）2016 年 3 月 11 日

18. 間宮隆吉、羽田麻希、角田侑紀、青山雄紀、Alkam Tursun、鍋島俊隆、平松正行  
妊娠期のニコチン摂取が仔の脳機能を低下させる  
第 133 回日本薬理学会関東部会（千葉県柏市）2015 年 10 月 10 日

19. 間宮隆吉、太田浩平、神田沙也加、中村綾乃、Tang Ya-Ping、鍋島俊隆、平松正行  
コレシストキニン神経系による学習・記憶機能調節機構

第 127 回日本薬理学会近畿部会（岐阜）2015 年 6 月 26 日

〔図書〕(計 1 件)

成田年（監修） 間宮隆吉ら（分担）

疾患薬理学 中枢系疾患の薬、病態、治療 pp.181-185、ネオメディカル(2016)

〔産業財産権〕

出願状況（計 0 件）

取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ: <http://www-yaku.meijo-u.ac.jp/kenkyu/chemical-pharmacology/>

## 6 . 研究組織

(1)研究分担者

なし

(2)研究協力者

なし

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。