

令和元年6月11日現在

機関番号：82611

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10201

研究課題名(和文) リゾホスファチジン酸シグナル伝達系をターゲットとした新規抗うつ薬の創薬研究

研究課題名(英文) Development of novel antidepressants targeting lysophosphatidic-acid-signaling

研究代表者

山田 美佐 (Yamada, Misa)

国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター・精神保健研究所 精神薬理研究部・科研費研究員

研究者番号：10384182

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：リゾホスファチジン酸(LPA)は、LPA受容体(LPAR)と結合し細胞内情報伝達系を調節する。本研究では、LPAシグナル伝達系が新規ストレス関連疾患治療薬の創薬ターゲットとなりうるか検討した。マウスにLPARを阻害するBrP-LPAを投与すると抗不安様作用が認められた。また、社会的敗北ストレスを負荷したマウスにLPAシグナル伝達系の主要分子であるRho kinaseを阻害するfasudilを投与した結果、ストレスに対して予防効果があった。以上より、LPAシグナル伝達系の調節は、ストレス関連疾患治療薬の創薬ターゲットとなる可能性が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

うつ病をはじめとするストレス関連疾患は大きな社会問題となっている。これらの疾患の治療には、主にモノアミン神経系に作用する薬物が用いられているが、理想的な薬物とは言い難い。理想的な治療薬の開発には、治療メカニズムを明らかとしそれをターゲットとする創薬戦略が必要である。

本研究では、これまでの我々の研究から、「リゾホスファチジン酸(LPA)シグナル伝達系の抑制がストレス関連疾患の治療に重要である」という仮説を実験動物の情動行動変化により明らかとし、本シグナル伝達系が新規ストレス関連疾患治療薬の創薬ターゲットとなる可能性を報告した。

研究成果の概要(英文)：Lysophosphatidic acid (LPA), a potent bioactive lipid mediator serves as an extracellular signaling molecule through its specific receptors LPAR1-6. In the present study, to determine whether inhibition of LPA signaling is a potential novel target for stress-related mental disorder, we examined the behavioral effects of BrP-LPA, LPAR antagonist, and fasudil, an inhibitor of ROCK that a key molecule of LPA signaling. Microinjection of BrP-LPA into the mouse ventral hippocampus, a brain region associated with stress, emotion, and affective behaviors significantly increased the percentage of time spent in the open arms in the elevated plus-maze test. Using social defeat stress (SDS) model, administration of fasudil during the stress exposure significantly decreased the immobility. Our results may suggest that inhibition of LPA signaling would be a potential novel target for stress-related mental disorders.

研究分野：医歯薬学

キーワード：抗うつ薬 リゾホスファチジン酸 創薬

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

1. 研究開始当初の背景

ストレス社会といわれる現代、うつ病をはじめとするストレス関連疾患は大きな社会問題となっているが、その病態および治癒メカニズムは未だ明らかとなっていない。現在これらの疾患の治療には、主にモノアミン神経系に作用する薬物が用いられているが、臨床効果発現までに数週間を要する点や副作用の問題点から、理想的な薬物とは言い難い。理想的な治療薬の開発には、治癒メカニズムを明らかとし、それをターゲットとする創薬戦略が必要である。

これまで我々は、うつ病の治癒メカニズムに関与する脳内遺伝子の探索を行ってきた。その中で得られた転写因子 MATH2 が転写制御する下流遺伝子として、リゾホスファチジン酸 (LPA) を脱リン酸化し不活性化することが報告されている Plasticity related gene 1 (Prg1) を同定した (Yamada et al., 2008)。また、MATH2 の他に、LPA シグナル伝達系の下流遺伝子である Rho の下流遺伝子を複数同定した。これらのことから、LPA がうつ病の治癒機転にきわめて重要であるとの仮説に至った。実際、LPA を実験動物脳室内に投与した結果、不安様行動が惹起されることが明らかとなり、LPA が情動行動に極めて重要であることを報告した (Yamada et al., 2015)。

2. 研究の目的

LPA は、細胞増殖、血小板凝集、平滑筋収縮、がんの浸潤など、多彩な生理活性を有する脂質性メディエーターである。LPA は G タンパク共役型 LPA 受容体 (LPAR) と結合し、細胞内情報伝達系を調節する。LPAR はこれまでに、6 種類のサブタイプがクローニングされており、G_s, G_i, G_q, G_{12/13} の G タンパクと共役する。G_{12/13} (Rho) は、Rho kinase (ROCK) を活性化する。本研究では、LPA 受容体及び LPA シグナル伝達系がストレス関連疾患治療薬の創薬ターゲットとなりうるかを検討することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) LPAR アンタゴニスト 1-bromo-3(S)-hydroxy-4-(palmitoyloxy)butyl-phosphonate (BrP-LPA) の情動行動に対する影響

C57BL/6N マウスに生理食塩水又は BrP-LPA (10 μM, 30 μM/0.25 μL) を腹側海馬に微量投与し、15 分後に高架式十字迷路試験、Y 字迷路試験を行った。

腹側海馬への BrP-LPA 灌流による細胞外グルタミン酸、GABA 濃度変化は、マイクロダイアリシス法により電気化学検出器付高速液体クロマトグラフを用いて定量した。マウス腹側海馬に透析プローブを留置し、透析液を灌流させ、透析開始から 2 時間後に被験薬物を含んだ透析液を 30 分間灌流した。

(2) Rho kinase 阻害薬 fasudil の情動行動に対する影響

ストレス関連疾患のモデルとして社会的敗北ストレスモデルを用いた。攻撃個体には ICR マウスを、被験体には C57BL/6J マウスを用いた。攻撃個体のホームケージに被験体を侵入させ 10 分間攻撃を受けさせた後、透明な仕切りを隔てて 2 匹を 24 時間飼育する操作を 10 日間連続で行った。予防的効果の検討では、毎回のストレス負荷 30 分前に fasudil (10 mg / kg) を腹腔内投与し、最終ストレスの翌日に強制水泳試験を行った。治療の効果の検討では、10 日間のストレス負荷の翌日、fasudil (10mg / kg) を腹腔内投与し、その 30 分後に強制水泳試験を行った。

4. 研究成果

(1) LPAR アンタゴニスト BrP-LPA の情動行動に対する影響

これまでに、LPA を実験動物脳室内に投与した結果、不安様行動が惹起されることを報告した (Yamada et al., 2015)。そこで、LPAR による情動行動変化に重要な脳部位を明らかにし、LPAR 調節が新規ストレス関連疾患治療薬の創薬ターゲットとなりうるかを検討するため、LPAR アンタゴニストの BrP-LPA を腹側海馬に微量投与し高架式十字迷路試験を行った。その結果、BrP-LPA 30 μM を投与したマウスは対照群と比較して open arm 滞在時間率を有意に増加させた。一方、総移動距離には変化がなかった (図 1)。このことから、LPAR による情動行動変化に腹側海馬が重要であること、BrP-LPA は抗不安様作用を有することが明らかとなった。

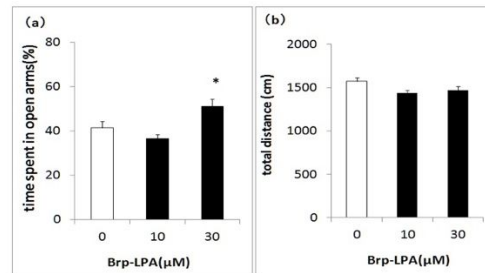


図 1：高架式十字迷路試験における BrP-LPA の微量投与による効果

LPAR による情動行動変化に腹側海馬が重要であることが明らかとなったため、BrP-LPA の腹側海馬への微量投与における短期記憶への影響を Y-maze 試験を用いて検討した。その結果、BrP-LPA を微量投与したマウスでは、対照群と比較して自発的交替行動率に変化を与えなかったことから、腹側海馬の LPA-LPAR シグナル伝達系は短期記憶を悪化させないことが明らかとなった。(図 2)

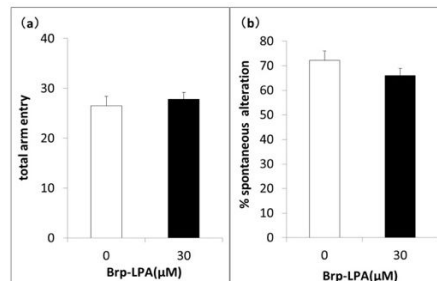


図 2：Y 字迷路試験における BrP-LPA の微量投与による効果

次に、BrP-LPA による抗不安様作用のメカニズムを明らかにするためにマウス腹側海馬に BrP-LPA (30 μM) を 30 分間局所灌流し、細胞外グルタミン酸濃度及び GABA 濃度をマイクロダイアリシス法により測定した。その結果、グルタミン酸及び GABA とともに増加が見られ、BrP-LPA 灌流開始 20 分後に有意な増加が認められた。これらの神経伝達物質濃度の変化が情動行動変化のメカニズムに関与するかについては今後の検討が必要である。

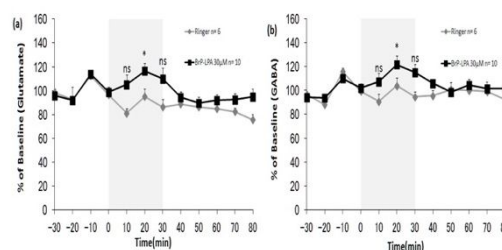


図 3：BrP-LPA 灌流による細胞外グルタミン酸濃度及び GABA 濃度の変化

(2) Rho kinase 阻害薬 fasudil の情動行動に対する影響

LPA シグナル伝達系の主要リン酸化酵素 Rho kinase が創薬ターゲットとなりうるかを、社会的敗北ストレス負荷モデルを用いて検討した。10 日間の社会的敗北ストレスを負荷したマウスは、無動時間を有意に延長したことから、ストレスモデルが成立していることを確認した。ストレス負荷期間の 10 日間、毎日 fasudil を投与した群では、saline 投与群に比べて無動時間が有意に減少した。一方、ストレス 10 日負荷後に fasudil を投与した群では、saline 投与に比べて無動時間に差はなかった。これらのことから fasudil は、社会的敗北ストレスによるマウスの行動変化を予防することが明らかとなった。fasudil は、くも膜下出血術後の脳血管攣縮及びこれに伴う脳虚血症状を改善する治療薬として既に製造販売承認されている薬である。ヒトでの安全性や体内動態が確認された既存薬から新たな薬効を探るドラッグリポジショニング方略により、新規ストレス関連疾患治療薬として早期に臨床応用されることが期待される。

本研究成果は、即効性で副作用の少ない新規抗うつ薬の創薬につながると考える。

5 . 主な発表論文等

〔学会発表〕(計 7 件)

1. 心理的ストレスに特化した慢性ストレスモデルの確立 中武優子、請園正敏、古家宏樹、國石洋、山田美佐、吉澤一巳、山田光彦 第 19 回応用薬理シンポジウム 2017.9.15,16 明治薬科大学 清瀬キャンパス
2. Yamada. M., Nakatake, Y., Ukezono, M., Furuie, H., Kuniishi, H., Yamada, M., Yoshizawa, K.: Novel animal model reflecting stress resilience and susceptibility in patients with stress-related disorders. Max Planck Institute & NCNP Joint Symposium 2017 10.15-19. Munich, Germany
3. 心理的ストレスに焦点を当てた社会的敗北ストレス負荷マウスモデルの確立: 構成概念妥当性の高い新規の慢性ストレスモデルの提案 中武優子、請園正敏、古家宏樹、國石洋、山田美佐、吉澤一巳、山田光彦 第 36 回躁うつ病の薬理・生化学的研究懇話会 2017.10.27-28 順天堂大学 10 号館 1 階カンファレンスルーム
4. Nakatake, Y., Ukezono, M., Furuie, H., Kuniishi, H., Yamada, M., Yoshizawa, K., Yamada, M.: Witnessing the defeat of a conspecific induces social avoidance in mice. Asia Pacific Regional Congress of Biological Psychiatry (WFSBP) 2018.9.7-9 神戸
5. Nakatake, Y., Ukezono, M., Furuie, H., Kuniishi, H., Yamada, M., Yoshizawa, K., Yamada, M.: Chronic social defeat stress induces social avoidance and changes the plasma cytokines levels in mice. 2018.11.3-7 San Diego, CA
6. 心理的ストレスと身体的ストレスはマウスの行動と免疫系に異なる影響を及ぼす Emotional and physical stress exerts different effects on behavior and immune system in mice 中武優子、古家宏樹、國石洋、山田美佐、吉澤一巳、山田光彦 第 28 回日本臨床

精神神経薬理学会、第 48 回日本神経精神薬理学会合同年会 2018.11.14-16 東京ドーム
ホテル

7. ROCK 阻害剤であるファスジルは社会的敗北ストレスによるマウスの行動変化を予防する A ROCK inhibitor, fasudil, prevents behavioral changes induced by social defeat stress in mice. 中武優子、山田美佐、古家宏樹、吉澤一巳、山田光彦 第 92 回日本薬理学会年会 2019.3.14-16 大阪国際会議場

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：古家 宏樹

ローマ字氏名：(FURUIE, hiroki)

所属研究機関名：国立研究開発法人 国立精神・神経医療研究センター・精神保健研究所
部局名：精神薬理研究部

職名：室長

研究者番号(8桁)：90639105

研究分担者氏名：山田 光彦

ローマ字氏名：(YAMADA, mitsuhiko)

所属研究機関名：国立研究開発法人 国立精神・神経医療研究センター・精神保健研究所
部局名：精神薬理研究部

職名：部長

研究者番号(8桁)：60240040

研究分担者氏名：斉藤 顕宜

ローマ字氏名：(SAITOH, akiyoshi)

所属研究機関名：国立研究開発法人 国立精神・神経医療研究センター・精神保健研究所
部局名：精神薬理研究部

職名：室長

研究者番号(8桁)：00366832

(削除：平成 30 年 3 月 12 日)

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。