

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2006～2008

課題番号：18209009

研究課題名（和文） 神経ペプチドPACAPの機能と疾患への分子基盤の解明

研究課題名（英文） Molecular basis on function and clinical implication of neuropeptide PACAP

研究代表者

馬場 明道 (BABA AKEMICHI)

大阪大学・大学院薬学研究科・教授

研究者番号：70107100

研究成果の概要：

1. PACAP 遺伝子欠損マウスが、統合失調症のマウスモデルであること、その分子基盤の一端を実証した。併せて、臨床的に PACAP 遺伝子の変異がヒト統合失調症の脆弱因子であることを明らかにした。
2. 脳では生物時計調節因子としてのプロスタグランジン D2 の役割解明、膵臓では、RegIII β 、HPGB という機能未知遺伝子について、各々、組織リモデリング、ミトコンドリア形態制御因子としての機能を持つことを明らかにした。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	17,200,000	5,160,000	22,360,000
2007年度	10,200,000	3,060,000	13,260,000
2008年度	10,200,000	3,060,000	13,260,000
年度			
年度			
総計	37,600,000	11,280,000	48,880,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・薬理学一般

キーワード：中枢・末梢神経

1. 研究開始当初の背景

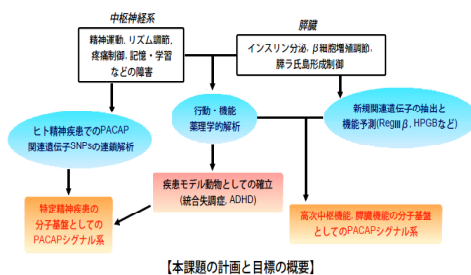
神経ペプチド PACAP (Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide) はこれまでの研究から神経伝達物質、神経栄養因子として種々の生理・病態機能に関わることが明らかになりつつあり、生理・病態発現機序の解明、新しい創薬標的分子の探索研究に重要な新規シグナル系として注目されている。当初、本ペプチドは膵内分泌系の調節因子としての限局した役割が注目されてきたが、申請者らの分子薬理学的研究により、これまで予測されていなかった精神、認知などの高次中枢神経系および膵臓における機能的役割が実験レベルでクローズアップされてきた。従って、そのシグナル系の機能解明はこれら脳および膵臓の生理・病態の分子機構の理解へ貢献するだけにとどまらず、その疾患の新規創薬標的候補分子を提示することにつながる。

2. 研究の目的

(1) PACAP の中枢神経機能：実験動物レベルでの高次脳機能（精神運動、記憶・学習、疼痛、リズム調整）における PACAP の役割を明確にする。更に、その臨床的意義付けとしてヒトの統合失調症、感情障害における PACAP 遺伝子の関連解析を行い、疾患関連遺伝子としての位置づけを明確にする。

(2) PACAP の膵臓機能：インスリン分泌制御とランゲルハンス島（ラ氏島）形成における PACAP シグナル系の役割を明らかにし、これまでの研究から導き出されたラ氏島過形成制御因子としての PACAP 応答遺伝子 RegIII β と過形成関連遺伝子として見いだされた機能未知遺伝子（Hyperplasia-induced gene of β cell, HPGB）の機能解明を目指す。

3. 研究の方法



上表に示した項目について、中枢神経系の検討では、PACAP 遺伝子欠損 (PACAP-KO) マウスの表現型解析を分子薬理的、行動薬理的、分子生物学的手法により実施した。膵臓機能については、膵ラ氏島特異的 PACAP 過剰発現 (PACAP-Tg) マウスを主に

使い、その表現型解析を行い、併せて、膵島から同定した新規遺伝子の機能解析は、膵 β 細胞、COS-7 細胞の発現系で行った。

4. 研究成果

(1) PACAP-KO の中枢表現型の分子基盤

1) 精神運動行動異常：① PACAP-KO マウスが統合失調症に加えて、新しいタイプの感情障害（うつ）のマウスモデルであること（論文①,⑧,⑨）、②精神運動行動異常（記憶障害、過活動、うつ様行動）が、生後 4-8 週の飼育環境（豊かな環境）により、一過性に見られなくなること、逆に、この間の隔離飼育により、攻撃性という新たな表現型が出現することを見出した。本マウスが疾患病態における遺伝要因×環境要因のすぐれたモデルとなることを実証（学会発表①）、③精神的ストレス入力処理障害が見られ、その関与回路として、前頭皮質、室傍核、扁桃核経路を同定。さらに、上記表現型が 5-HT 神経系の入力異常によること（論文⑦）を明らかにした。

PACAP のこれら精神機能への関与の分子基盤として、最近、注目されている統合失調症の代表的脆弱因子 DISC1 の新たな会合たんばく DBZ を見出し、その会合を PACAP が調節する可能性を見出した（論文⑤）。

2) 生物時計調節障害：PACAP-KO の概日リズム制御異常の機構解析から、プロスタグランジン D2 (PGD2) 合成酵素 -PGD2-CRTH2 シグナルが新規の光同調因子であることを見出した(学会発表⑤)。この知見は、これまで末梢機能しか知られていなかった CRTH2 の中枢機能を初めて示すものである。さらに、PACAP による SCN での転写活性が種々の非視覚光受容反応の発現に関わることを示した（論文②）。

3) 脳虚血の脆弱性：PACAP は障害に対する組織保護因子として働くことが提唱されている。PACAP-KO マウスが実験的脳虚血に対する脆弱性を示すこと、その機序として、PACAP は IL-6 シグナル系にリンクすることを明らかにした（論文⑩）。

(2) PACAP-KO マウスの膵臓表現型の分子基盤

1) 代謝制御異常：本マウスの膵臓をはじめとする代謝制御異常について、新たに、白色脂肪の減少をはじめとする種々のエネルギー代謝機能異常を明らかにした(論文③,⑥)。

2) 膵島からの新規遺伝子の機能

① RegIII β ： PACAP-Tg マウスと糖尿病

マウスとの交雑マウスから得た膵島過形成制御因子として同定した **RegIII β** について、培養 β 細胞系を用い、①PACAP 応答性、②PACAP の抗 II 型糖尿病作用（糖不応答性、過増殖、細胞死の抑制効果）のうち、高血糖による過増殖抑制に関わること、③外分泌系の作用として、膵腺房細胞の炎症反応制御への関与を明らかにした。すなわち、PACAP-RegIII β が新たな組織リモデリングシグナルであることを示した（学会発表③）。

② HPGB (Hyperplasia-associated gene of β cell): HPGB は、膵島過形成因子として RegIII β と同じく、我々が同定した機能未知遺伝子である。本遺伝子について、*in vivo*, *in vitro* の検討から、骨格筋、心筋、褐色脂肪組織に多く発現する、新たなミトコンドリア動態制御因子であることを明らかにした。すなわち、HPGB は COS-7 細胞の強制発現系での検討から、①ミトコンドリア断片化と膜電位低下を起こすこと、②分子内にミトコンドリアへの局在化や形態制御に関わる機能ドメインを有すること、③ミトコンドリア内膜で機能する新規のミトコンドリア開裂因子であることを明らかにした。

3) PACAP 遺伝子変異と精神疾患の臨床遺伝学的解析

PACAP 遺伝子の 7 つの一塩基多型 (SNP) のうち、SNP3,5 の頻度とヒト統合失調症の海馬容積減少、海馬性連合記憶とに優位の関連が見出された（論文④、学会発表①,②,④）。同様に、うつ病との間にも弱いながら関連が見出された（学会発表②）。

[総括と意義]

研究目的に照らして総括する。

(1) 中枢神経機能との関連: PACAP-KO マウスの精神運動行動異常について、精神ストレス入力系に対する応答障害があり、その神経核を明らかにすることができた。

また、光同調障害の機構解明から、PGD2-CRTH2 シグナルが光による位相前進の制御因子であることを見出した。この発見は、このシグナル系の中枢神経系での機能的役割を示す、まったく初めての知見である。

さらに、同マウスの表現型と環境因子（幼若期の飼育環境）についての成果は、精神疾患をはじめとする多くの疾患における遺伝子型と環境因子の関わりを明確に示すことのできた例として、極めて興味深い。

一方、臨床的展開としての、ヒト統合失調症での臨床遺伝学的解析において、同疾患の海馬機能の低下と PACAP 遺伝子の特定 SNP に優位の関連がみられたことは、上記の PACAP-KO が本疾患のマウスモデルであるというこれまでの我々の知見と合わせ、PACAP シグナル系の精神系への機能的関与

を強く示したものである。このことは、同様の関連が感情障害においてもみられたことから、裏付けられる。先述の PACAP と DISC1 との関連を示す知見は、これらの分子基盤の一部を示唆しているのかもしれない。

(2) 膵臓機能との関連: PACAP-Tg マウスと糖尿病マウスとの交雑マウスの膵島形成変化を基盤に、膵島の網羅的遺伝子発現解析から見出した 2 種類の遺伝子、RegIII β と HPGB について機能解析をした。RegIII β については、内分泌において、PACAP-RegIII β シグナル系が、膵島過形成の制御をおこなうことを見出し、外分泌においては、膵炎の病態発症を制御するシグナル系であることを明らかにした。これらの知見は、同シグナル系が組織リモデリングに関与することを示すもので、新規の急性炎症因子として注目されている RegIII β の生理病態機能を示し得たものである。

一方、HPGB については、本課題のスタート時点ではその機能は全く未知であったが、新しいミトコンドリア形態制御因子であることを明らかにした。最近、ミトコンドリアの形態制御は、細胞において重要な機能であることが明らかになり、その関与分子が複数見出されている。HPGB については、その組織発現から、心筋、褐色脂肪細胞などミトコンドリアに富む組織の代謝制御、病態などへの関与が強く示唆される。RegIII β 、HPGB は共に、本課題の遂行によりその機能的側面が明確になってきた新たな生体内分子であり、今後の大きな展開をもたらす知見といえる。

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] (下記 10 件ほか計 90 件)

- ① Hashimoto H①, Hashimoto R②, Shintani N③, and Baba A⑩ (計 12 名), Depression-like behavior in the forced swimming test in PACAP-deficient mice: amelioration by the atypical antipsychotic risperidone, *Journal of Neurochemistry*, accept(2009), 有
- ② Hatanaka M, Shintani N③, Hashimoto H⑥, and Baba A⑩ (計 10 名), Lack of light-induced elevation of renal sympathetic nerve activity and plasma corticosterone levels in PACAP-deficient mice, *Neurosci. Lett.*, 444, 153-156, (2008), 有
- ③ Tomimoto S, Ojika T, Shintani N③, Hashimoto H④, Hamagami K, Ikeda K, Nakata M, Yada T⑧, Sakurai Y, Shimada T, Morita Y, Ishida C, Baba A⑬ (計 8 名), Markedly reduced white adipose tissue and increased insulin sensitivity in *Adcyap1*-deficient mice, *J. Pharmacol. Sci.*, 107, 41-48 (2008), 有
- ④ Hashimoto R①, Hashimoto H②, Shintani N③, and Baba A(25) (計 25 名), Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide is associated with schizophrenia, *Mol. Psychiatry*, 12, 1026-1032 (2007), 有
- ⑤ Hattori T, Hashimoto H⑧, Shintani N⑨, Baba A⑩, and Katayama T (計 16 名), A novel DISC1-interacting partner DISC1-Binding Zinc-finger protein: implication in the modulation of DISC1-dependent neurite outgrowth, *Mol. Psychiatry*, 12, 398-407 (2007), 有
- ⑥ Nakata M, and Yada T, PACAP in the glucose and energy homeostasis: physiological role and therapeutic potential. In: *Therapeutic Potential of VIP and PACAP*, *Curr Pharm Des*, 13(11), 1105-1112, (2007), 有
- ⑦ Shintani N①, Hashimoto H②, and Baba A⑨ (計 9 名), Serotonergic inhibition of intense jumping behavior in mice lacking PACAP (*Adcyap1*^{-/-}), *Ann N Y Acad Sci*, 1070, 545-549, (2006), 有
- ⑧ Hashimoto H, Shintani N, Baba A, New insights into the central PACAPergic system from the phenotypes in PACAP-

and PACAP receptor-knockout mice, *Ann N Y Acad Sci*, 1070, 75-89, (2006), 有

- ⑨ Tanaka K, Shintani N②, Hashimoto H③, Hashimoto R⑦, and Baba A⑩ Psychostimulant-induced attenuation of hyperactivity and prepulse inhibition deficits in *Adcyap1*-deficient mice, *J. Neurosci.*, 26, 5091-5097 (2006), 有
- ⑩ Ohtaki H, Hashimoto H⑧, Shintani N⑨, Baba A⑩, and Shioda S⑮ (計 15 名), Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) decreases ischemic neuronal cell death in association with IL-6, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103 · 19, 7488-7493, (2006), 有

[学会発表] (下記 5 件ほか計 125 件)

- ① Baba A, Roles of a neuropeptide, PACAP, on psychomotor function and photoentrainment, The 19th Korea-Japan Joint Seminar on Pharmacology, The 60th Annual meeting of the Korean Society of Pharmacology, 2008 年 11 月 7-8 日, 釜山, 韓国
- ② Hashimoto H, PACAP Signaling: A promising drug target for neuropsychological disorders, Ehrlich II - 2nd World Conference on Magic Bullets, 2008 年 10 月 3-5 日, Nürnberg, Germany
- ③ K Hamagami, PACAP-regulated BETA-CELL PROLIFERATION: Implication of RegIIBETA, 8th International Symposium for VIP, PACAP and Related Peptides, Sep. 5th 2007, Manchester, Vermont, USA
- ④ Hitoshi Hashimoto, Evidence that the PACAP gene contributes to the risk of schizophrenia, 8th International Symposium for VIP, PACAP and Related Peptides, Sep. 5th 2007, Manchester, Vermont, USA
- ⑤ Shintani N, Altered non-visual photoreceptive response in PACAP-knockout mice, The 16th International Symposium on Regulatory Peptides (REGPEP' 06) 【国際学会】、2006 年 8 月 30 日-9 月 2 日、箱根

[図書] (下記 2 件ほか計 10 件)

- ① Morikawa K, et al., Springer-Verlag, Tokyo, *Transmitters and Modulators in Health and Disease -New Frontiers in Neuroscience*, Expression and localization of pituitary adenylate

cyclase-activating polypeptide
(PACAP) specific receptor (PAC1R)
after traumatic brain injury in mice,
(2009), in press

- ② 馬場 明道 他, 神経ペプチド PACAP-新しい創薬標的分子探索へ, 遺伝子医学MOOK⑧, (2007), 168-172

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称: 精神障害治療用の薬学的組成物および
そのスクリーニング方法

発明者: 馬場 明道、川口ちひろ、橋本 均、
新谷 紀人、永井 克也、磯島 康史、杉本 幸彦

権利者: 大阪大学

産業財産権の種類: 特願

番号: 2006-356120

出願年月日: 平成 18 年 12 月 28 日

国内・国外の別: 国内

[その他]

ホームページ等

<http://www.phs.osaka-u.ac.jp/homepage/b010/index.html>

<http://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/psy/www/jp/labosp/index.htm>

<http://www10.showa-u.ac.jp/~anat-1/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

馬場 明道 (BABA AKEMICHI)

大阪大学・大学院薬学研究科・教授

研究者番号: 70107100

(2) 研究分担者

橋本 均 (HASHIMOTO HITOSHI)

大阪大学・大学院薬学研究科・准教授

研究者番号: 30240849

新谷 紀人 (SHINTANI NORIHITO)

大阪大学・大学院薬学研究科・助教

研究者番号: 10335367

塩田 清二 (SHIODA SEIJI)

昭和大学・医学部・教授

研究者番号: 80102375

矢田 俊彦 (YADA TOSHIHIKO)

自治医科大学・医学部・教授

研究者番号: 60166527

橋本 亮太 (HASHIMOTO RYOTA)

大阪大学・子どものこころの分子制御機構

研究センター・特任准教授

研究者番号: 10370983

(3) 連携研究者