

## 自己評価報告書

平成 23 年 5 月 6 日現在

機関番号：82611

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：平成20年度～平成23年度

課題番号：20390318

研究課題名（和文） 神経栄養因子受容体の精神疾患における役割に関する研究

研究課題名（英文） Role of neurotrophin receptor p75 in psychiatric diseases

研究代表者

功刀 浩 (KUNUGI HIROSHI)

独立行政法人国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 疾病研究第三部 部長

研究者番号：40234471

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：遺伝子、神経科学、脳神経疾患、薬理学、神経栄養因子

## 1. 研究計画の概要

近年、精神神経疾患（統合失調症、気分障害、神経変性疾患など）の病態の鍵分子として脳由来神経栄養因子(BDNF)をはじめとする神経栄養因子が注目されている。本研究では、ニューロトロフィン共通の受容体 p75<sup>NTR</sup> に注目し、精神神経疾患における役割を解明することを目的とする。具体的には、1) p75<sup>NTR</sup> 遺伝子を前脳特異的に過剰発現する遺伝子改変マウスを作成し、その行動解析、分子病態の解析を行い、この分子の中樞神経系における機能解析と精神神経疾患における役割について明らかにすることを主な目的とする。2) この動物やその他のうつ病モデル動物を用いて、p75<sup>NTR</sup> の拮抗薬が精神疾患治療薬として有用である可能性について検証する。3) 申請者らの先行研究によってうつ病と関連がみられた p75<sup>NTR</sup> タンパクのアミノ酸置換(Ser205Leu)がタンパクにいかなる機能変化を与えるかについて、細胞生物学的に明らかにする。

## 2. 研究の進捗状況

遺伝子改変動物作成のためのコンストラクトの作成から始め、これまでに p75<sup>NTR</sup> を前脳特異的に過剰発現するトランスジェニックマウスを作成に成功した。結果として4系統の p75<sup>NTR</sup> 過剰発現マウスにおいて、ライン A およびライン B では 100 コピー、ライン C では 30 コピー、ライン D では 10 コピーがゲノムに組み込まれていた。これらはウエスタンブロットによる実験から、目的とする大脳皮質、海馬での過剰発現が見られることを確認した。また一方で、小脳では野生型との変化がないことも確認できているた

め、これらのマウスのラインは部位特異的な p75<sup>NTR</sup> の過剰発現マウスとして確立できたとして研究を先に進めている。

行動解析については、独立行政法人理化学研究所・バイオリソースセンター マウス表現型解析開発チームの協力を得ている。既に、つくばの理化学研究所の施設にマウスを一部移し、第一段階として行動解析用に繁殖させ、明暗往来試験、オープンフィールドテスト、ホームケージテスト、受動的回避学習試験、尾懸垂試験、ホットプレートテスト、テールフリックテストを行い、解析し、両ラインに共通して活動性が増大するという結果が得られている。

組織化学的解析については、大脳皮質、および海馬に着目して、パルバルブミン陽性細胞、カルビンジン陽性細胞の構造的な変化を観察して精神疾患マウスとしての有用性を検証している。また、p75<sup>NTR</sup> 自身、もしくはそのシグナル伝達と関与することが期待されている分子の関連解析も並行して行い、精神疾患との興味深い関連を見出している。

p75<sup>NTR</sup> の拮抗薬であることが報告されている低分子化合物 LM11A をマウスに投与し、行動実験を行っているが、今のところ著明な行動変化はみられていない。

p75<sup>NTR</sup> タンパクのアミノ酸置換(Ser205Leu)を与える遺伝子多型とうつ病との関連について、独立のサンプルで解析を行い、関連が再現されることを確認し、論文投稿中である。また、機能解析を行うためにアミノ酸置換を生じしている組み換えタンパク質を作成し、培養ニューロンに過剰発現させたところ、Ser205型の方が、Leu205型に比較して、細胞生存率が高いことを見出した。

### 3. 現在までの達成度

遺伝子改変動物の作成は成功したのは、大きな成果である。しかし、その行動解析はいまだに途中であり、最終年度に完成させ、一定の結論を提出する必要がある。脳の病理学的解析もいまだに途中であり、最終年度に結論を出す必要がある。低分子化合物の行動薬理的解析は、一通りの検索が終了したが、著明な変化が見られなかったため、最終年度に発達期に投与するなどの工夫を行う必要がある。組み換えタンパクによる遺伝子多型の機能解析は、培養ニューロンを用いた解析によって比較的きれいに差をみる事ができたので、これも大きな成果である。

### 4. 今後の研究の推進方策

遺伝子改変動物に関しては、プレパルスインヒビションテストなどの残りの行動実験を最終年度に終了し、p75NTRの過剰発現の行動への影響について結論付ける予定である。また、組織化学的解析も最終年度に結論付ける予定である。

p75<sup>NTR</sup>の拮抗薬であることが報告されている低分子化合物LM11Aの効果については、成体には大きな効果がみられなかったことから、今後は発達期のマウスに投与して解析する必要があると考えられる。

アミノ酸置換(Ser205Leu)の機能解析については、突起伸長やスパイン形成などへの影響についてみる予定である。

### 5. 代表的な研究成果

〔雑誌論文〕(計 6件)

① Interface between hypothalamic - pituitary - adrenal axis and brain-derived neurotrophic factor in depression. Kunugi H, Hori H, Adachi N, Numakawa T. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2010 Oct; 64 (5) :447-59.

② Possible association of the semaphorin 3D gene (SEMA3D) with schizophrenia. Fujii T, Uchiyama H, Yamamoto N, Hori H, Tatsumi M, Ishikawa M, Arima K, Higuchi T, Kunugi H. *J Psychiatr Res*. 2011 Jan;45(1):47-53.

③ p75NTR as a therapeutic target for neuropsychiatric diseases. Fujii T, Kunugi H. *Curr Mol Pharmacol*. 2009 Jan; 2(1):70-6.

④ Sexually dimorphic effect of the Val66Met polymorphism of BDNF on susceptibility to Alzheimer's disease: New data and meta-analysis. Fukumoto N, Fujii T, Combarros O, Kamboh MI, Tsai SJ, Matsushita S, Nacmias B, Comings DE, Arboleda H, Ingelsson M, Hyman BT, Akatsu

H, Grupe A, Nishimura AL, Zatz M, Mattila KM, Rinne J, Goto Y, Asada T, Nakamura S, Kunugi H. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2010 Jan 5;153B(1):235-42.

⑤ BDNF is not associated with schizophrenia: data from a Japanese population study and meta-analysis. Kawashima K, Ikeda M, Kishi T, Kitajima T, Yamanouchi Y, Kinoshita Y, Okochi T, Aleksic B, Tomita M, Okada T, Kunugi H, Inada T, Ozaki N, Iwata N. *Schizophr Res*. 2009 Jul;112(1-3):72-9.

⑥ Glucocorticoid receptor interaction with TrkB promotes BDNF-triggered PLC-gamma signaling for glutamate release via a glutamate transporter. Numakawa T, Kumamaru E, Adachi N, Yagasaki Y, Izumi A, Kunugi H. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Jan 13;106(2):647-52.

〔学会発表〕(計 3件)

① 功刀 浩: グルココルチコイドと神経栄養因子を鍵分子とした精神疾患研究. 第2回生物学・化学・情報科学融合のための戦略的先進理工学研究基盤の形成(FBT)・超専攻型融合テーマスタディクラスター教育(TSC-PBL)ジョイントシンポジウム, 東京, 1.23,2010

② 藤井 崇: BDNF 遺伝子の機能多型 Val66Met とアルツハイマー病発症との女性特異的関連. 日本人類遺伝学会第 54 回大会, 東京, 2009 年 9 月 26 日.

③ Kunugi H: Altered expression of BDNF gene and vulnerability to stress in Schizophrenia. XXVI CINP Congress. Munich, Germany. July 16, 2008

〔図書〕(計 1件)

① 功刀 浩: うつ病の BDNF 仮説. 最新うつ病のすべて (樋口輝彦編) 別冊・医学のあゆみ, 医歯薬出版, 東京, pp 184-189, 2010.

〔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.ncnp.go.jp/nin/guide/r3/index.html>