

令和 5 年 6 月 13 日現在

機関番号：15401

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2022

課題番号：21K19714

研究課題名（和文）運動に規定されない環境強化の精神機能障害抑制因子の同定

研究課題名（英文）Identification of novel factors mediating the effects of environmental enrichment in the absence of voluntary exercise on psychiatric disorders

研究代表者

吾郷 由希夫（Ago, Yukio）

広島大学・医系科学研究科（歯）・教授

研究者番号：50403027

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、統合失調症やうつ病等の精神疾患と関連する神経ペプチドPACAPの遺伝子欠損マウスを用い、本マウスの示す異常行動や学習記憶障害が、幼若期の豊かな環境（環境強化）飼育により抑制されるものの、同期間、飼育ケージ内にランニング・ホイール（回し車）を入れることによる自発的運動の促進だけでは効果がみられないことを明らかにした。豊かな環境によるPACAP遺伝子欠損マウスの異常行動抑制作用には、回し車以外の環境強化因子による刺激が重要であり、また脳由来神経栄養因子BDNFとは異なるシグナルの関与が示唆された。このメカニズムの解明のため、網羅的遺伝子発現解析を実施し、いくつかの候補因子を同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

多くの精神疾患において遺伝的要因の関与が示されているが、その発症には個々の出生・生育環境、社会環境等の環境因子が関わっている。ヒトが日々健康的に生活をおくるうえで、身体活動・運動の重要性は広く認知されており、また末梢神経障害、スポーツ障害や外傷等からの機能回復において、運動療法が治療の一環として行われる場合もある。一方で発育早期や高齢時、また精神疾患や発達障害の場合においては、十分な、あるいは自発的な運動は困難である。本研究は、精神疾患モデルマウスを用いた環境要因の影響の解析から、運動によらない環境強化による脳機能保護という新たな可能性を示し、その分子基盤解明のための新しい方法論を構築した。

研究成果の概要（英文）：Mice lacking the gene encoding pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) display some remarkable behavioral changes, including hyperactivity and abnormal jumping behavior in a novel environment and deficits in learning and memory. In humans, the dysregulation of PACAP and its specific receptor PAC1 has been associated with schizophrenia, depression, and post-traumatic stress disorder. In this study, we found that abnormal behaviors of PACAP-deficient mice were prevented by rearing in an enriched environment, but not by voluntary exercise using a running wheel. Our results also suggest that signals different from brain-derived neurotrophic factor are involved in the suppression of abnormal behaviors by environmental enrichment in the absence of wheel running. To elucidate this mechanism, we performed the differential gene expression analysis and identified several candidate molecules.

研究分野：中枢神経系薬理学

キーワード：環境強化 精神疾患 運動 マウス 樹状突起スパイン

1. 研究開始当初の背景

1947年にHebbにより提唱された実験的概念である“environmental enrichment (豊かな環境)”とは、通常よりも大きな飼育ケージに、輪回し車をはじめとする様々な物体をランダムに配置することにより、運動、知覚、認知といった刺激を強化した環境を意味する。例えば、アルツハイマー病やハンチントン病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症、脆弱X症候群、およびダウン症候群等の疾患に関して、これらの疾患モデルマウスを豊かな環境下で飼育すると、病態発症の遅延や症状の回復がみられることが報告されている。これは、生得的に疾患発症脆弱性を有する動物であっても、適切な時期に適切な養育環境を与えることによって、その脆弱性を軽減・改善できる可能性を示している。この「環境強化」の効果は、構成する様々な刺激要因による複合的な作用によりもたらされるものと考えられるが、なかでもランニング・ホイール(回し車)の存在がもたらす効果、すなわち自発的な運動の促進が、環境強化において重要な要素であると注目され、脳機能に対する影響が解析されてきた。

下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ポリペプチド(PACAP)は、ヒツジ視床下部より単離・同定された神経ペプチドであるが、これまでに、PACAP遺伝子の一塩基多型が統合失調症およびうつ病と関連することが見いだされている(Hashimoto et al., Mol Psychiatry 12: 1026-1032, 2007; Neurosci Lett 468: 300-302, 2010)。我々は、遺伝的要因に基づく精神疾患モデルマウスとしてPACAP遺伝子欠損マウス(以降PACAP-KOマウス)を用い、その精神運動機能の障害や学習記憶障害の発症が、発育期の豊かな環境飼育により抑制されることを明らかにしてきたが(Ishihama et al., Behav Brain Res 209: 274-280, 2010; Takuma et al., Behav Brain Res 272: 269-278, 2014)、豊かな環境飼育のなかで、どのような因子が精神疾患発症の抑制に寄与しているのかは不明である。このような中で、従来重要視されてきた回し車による自発的な運動の促進だけでは、PACAP-KOマウスの異常行動を抑制できないことを発見した。

2. 研究の目的

本研究では、豊かな環境飼育といった環境強化による疾患発症の抑制効果に関わる因子の解析を、複数の異なる環境による差異を利用して進め、精神疾患の予防あるいは克服のための新たな方法論を構築し、また候補となる分子の探索を行う。

3. 研究の方法

(1) 実験動物

実験には、ICR系統のPACAP-KOマウスならびに野生型マウスを用いた。ヘテロ接合型マウス同士の交配により得られた野生型およびホモ接合型(PACAP-KO)マウスを実験に使用した。

(2) 飼育条件

3週齢でマウスを離乳させ、野生型およびPACAP-KOマウスをそれぞれ別の透明なケージにて5匹で群飼育した。その後4週齢から4週間、豊かな環境、回し車を含まない豊かな環境、回し車のみの環境、あるいは通常環境(図1)でそれぞれ飼育した後に、8週齢の時点で実験を行った。豊かな環境飼育には、通常よりも大きなケージを用い、ケージ内には小動物用の回し車に加え、巣箱やブロック・トンネルなどの遊具を設置し、週に2回物体の位置を変更した。



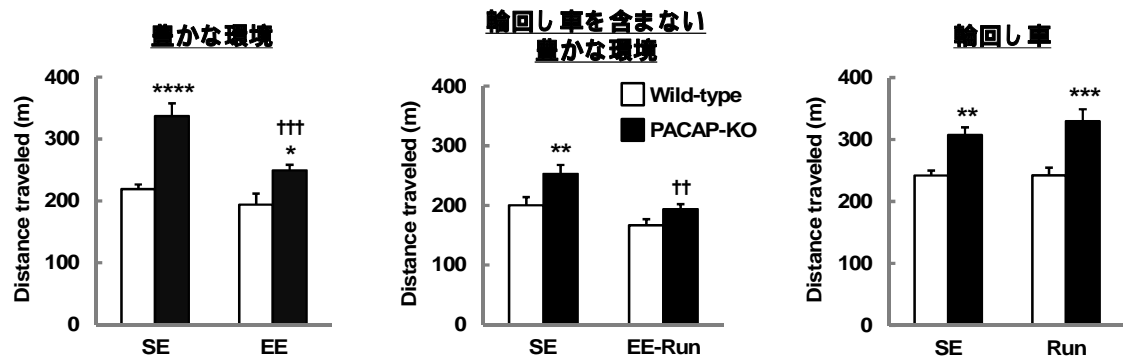
【図1】実験に用いた飼育環境。

(3) オープンフィールド試験

透明なアクリル板と黒色プレキシガラス製の床からなるオープンフィールド装置にマウスを入れ、その移動距離を解析した。

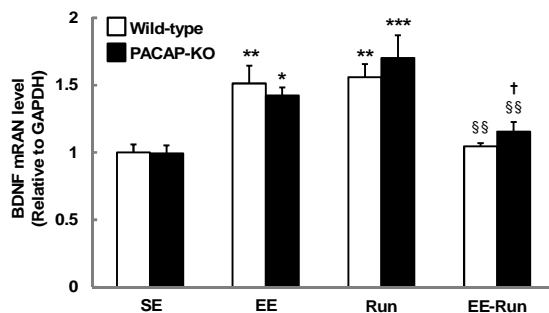
4. 研究成果

幼若期の環境強化飼育により、PACAP-KO マウスの多動（図2）やジャンプ行動、学習記憶障害が発症しないことを見いだしたが、同期間、飼育ケージ内に輪回し車を入れることによる自発的運動の促進だけでは効果がみられなかった。一方、輪回し車を含まない豊かな環境負荷によって、通常環境強化と同程度の病態発症予防効果が得られた。



【図2】各環境が PACAP-KO マウスの多動に与える影響。SE：通常環境，EE：豊かな環境，EE-Run：輪回し車を含まない豊かな環境，Run：回し車だけの環境。* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ，*** $P < 0.001$ ，**** $P < 0.0001$ vs. Wild-Type; † $P < 0.05$ ，†† $P < 0.01$ ，††† $P < 0.001$ vs. SE.

脳由来神経栄養因子 (BDNF) は、神経細胞の生存や成長、シナプス形成、シナプス可塑性等、神経細胞の発達や機能維持に重要な役割を果たすことが知られており、豊かな環境による作用にも関与していると考えられる。そこで、各飼育環境が海馬の BDNF の発現に与える影響について検討を行った。その結果、豊かな環境および輪回し車を設置した環境では海馬の BDNF mRNA 発現量の増加がみられたが、輪回し車を含まない豊かな環境では変化はみられなかった（図3）。



【図3】各環境が海馬の BDNF mRNA 発現量に与える影響。SE：通常環境，EE：豊かな環境，EE-Run：輪回し車を含まない豊かな環境，Run：回し車だけの環境。* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ，*** $P < 0.001$ ，vs. SE; † $P < 0.05$ vs. EE; §§ $P < 0.01$ vs. Run.

環境強化のメカニズムの解明のため、網羅的遺伝子発現解析を実施し、いくつかの候補因子について再現性を検討した結果、輪回し車を設置した環境と比較して、豊かな環境飼育による転写因子 NPAS4 ならびに EGR2 の発現増加が認められた。しかしながら両分子は、通常飼育を行った PACAP-KO マウスや野生型マウスと同レベル、あるいはむしろ低い発現量であった。このことから、これらの因子は環境強化による PACAP-KO マウスの異常行動や学習記憶障害の抑制には直接寄与していない可能性が考えられた。

樹状突起スパインは脳内の主要な興奮性シナプス後部であり、その形態および構成タンパク質の可塑的变化は学習記憶等の高次脳機能の維持に重要である。統合失調症患者では、樹状突起スパイン密度が低下していることが知られている。PACAP-KO マウスの海馬 CA1 領域において、スパイン密度が低下しており、この低下は輪回し車を設置した環境では影響を受けず、豊かな環境飼育および輪回し車を含まない豊かな環境飼育により抑制されることを明らかにした。このことは、環境強化による異常行動発現の抑制が、海馬樹状突起スパイン密度低下の改善と関連することを示しており、今後、スパインの制御機構に関わる分子に着目した解析が必要になると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Sakamoto K, Chen L, Miyaoka T, Yamada M, Masutani T, Ishimoto K, Hino N, Nakagawa S, Asano S, Ago Y	4. 巻 12
2. 論文標題 Generation of KS-133 as a novel bicyclic peptide with a potent and selective VIPR2 antagonist activity that counteracts cognitive decline in a mouse model of psychiatric disorders	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Pharmacology	6. 最初と最後の頁 751587
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fphar.2021.751587	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Imado E, Samnang S, Abawa AR, Tahara T, Kochi T, Huynh TNB, Asano S, Hasebe S, Nakamura Y, Hisaoka-Nakashima K, Kotake Y, Irifune M, Tsuga K, Takuma K, Morioka N, Kiguchi N, Ago Y	4. 巻 160
2. 論文標題 Prenatal exposure to valproic acid causes allodynia associated with spinal microglial activation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neurochemistry International	6. 最初と最後の頁 105415
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuint.2022.105415	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Asano S, Yamasaka M, Ozasa K, Sakamoto K, Hayata-Takano A, Nakazawa T, Hashimoto H, Waschek JA, Ago Y	4. 巻 12
2. 論文標題 Vasoactive intestinal peptide-VIPR2 signaling regulates tumor cell migration	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Oncology	6. 最初と最後の頁 852358
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fonc.2022.852358	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Ago Y, Yokoyama R, Asano S, Hashimoto H	4. 巻 223
2. 論文標題 Roles of the monoaminergic system in the antidepressant effects of ketamine and its metabolites	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Neuropharmacology	6. 最初と最後の頁 109313
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuropharm.2022.109313	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sakamoto K, Asano S, Ago Y, Hirokawa T	4. 巻 636
2. 論文標題 AlphaFold version 2.0 elucidates the binding mechanism between VIPR2 and KS-133, and reveals an S-S bond (Cys25-Cys192) formation of functional significance for VIPR2	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 10-16
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2022.10.071	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Asano S, Ono A, Sakamoto K, Hayata-Takano A, Nakazawa T, Tanimoto K, Hashimoto H, Ago Y	4. 巻 161
2. 論文標題 Vasoactive intestinal peptide receptor 2 signaling promotes breast cancer cell proliferation by enhancing the ERK pathway	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Peptides	6. 最初と最後の頁 170940
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.peptides.2023.170940	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 吾郷由希夫, 浅野智志	4. 巻 158
2. 論文標題 メスマウスを用いたうつ様行動の新しい評価法	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 日本薬理学雑誌	6. 最初と最後の頁 35-38
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1254/fpj.22101	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計18件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 吾郷由希夫
2. 発表標題 精神疾患の創薬を目指した脳研究～マウスでみてきたこと～
3. 学会等名 第40回躁うつ病の薬理・生化学的研究懇話会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吾郷由希夫
2. 発表標題 抗うつ薬・抗うつ薬候補の反応性からみるモデル動物の役割
3. 学会等名 第95回日本薬理学会年会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山口拓海, 片平海雅, 山口稜太, 石本憲司, 樋野展正, 高垣晶子, 大木涉吾, 鈴木壯幸, 中川晋作, 吾郷由希夫
2. 発表標題 緑茶カテキン代謝物EGC-M5はマウスの認知機能障害と抑うつ様行動を軽減する
3. 学会等名 日本薬学会第142年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山口稜太, 山口拓海, 中川晋作, 浅野智志, 松浦圭介, 中川正則, 吾郷由希夫
2. 発表標題 イミダゾールジペプチドの中枢作用に関する検討
3. 学会等名 日本薬学会第142年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yukio Ago, Rei Yokoyama, Atsushi Kasai, Masato Tanuma, Misuzu Hayashida, Yuto Shimazaki, Momoko Higuchi, Hisato Igarashi, Kaoru Seiriki, Shun Yamaguchi, Takanobu Nakazawa, Kenji Hashimoto, Hitoshi Hashimoto
2. 発表標題 Activation of the rostral agranular insular cortex is involved in the antidepressant actions of arketamine
3. 学会等名 The 61st Annual Meeting of the American College of Neuropsychopharmacology (ACNP) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名	Rei Yokoyama, Yukio Ago, Atsushi Kasai, Masato Tanuma, Misuzu Hayashida, Yuto Shimazaki, Momoko Higuchi, Hisato Igarashi, Kaoru Seiriki, Shun Yamaguchi, Takanobu Nakazawa, Kenji Hashimoto, Hitoshi Hashimoto
2. 発表標題	Agranular insular cortex mediates the antidepressant actions of arketamine
3. 学会等名	The 51st Annual Meeting of the Society for Neuroscience (Neuroscience 2022) (国際学会)
4. 発表年	2022年

1. 発表者名	Kohei Kitagawa, Masayuki Baba, Tomoya Takemoto, Masato Tanuma, Misuzu Hayashida, Shun Yamaguchi, Yukio Ago, Kaoru Seiriki, Atsuko Hayata-Takano, Kazuhiro Takuma, Atsushi Kasai, Hitoshi Hashimoto, Takanobu Nakazawa
2. 発表標題	Intranasal oxytocin administration suppresses social contact-induced neural activity in a POGZ-Q1038R mutant mouse model of autism spectrum disorder
3. 学会等名	The 51st Annual Meeting of the Society for Neuroscience (Neuroscience 2022) (国際学会)
4. 発表年	2022年

1. 発表者名	吾郷由希夫
2. 発表標題	自閉スペクトラム症の新しい治療戦略：社会性障害の回復機構における脳部位特異的オピオイドシステムバランスの役割
3. 学会等名	第96回日本薬理学会年会・第43回日本臨床薬理学会学術総会 合同大会（招待講演）
4. 発表年	2022年

1. 発表者名	吾郷由希夫
2. 発表標題	自閉スペクトラム症の病態基盤解明と創薬を目指して
3. 学会等名	第39回日本障害者歯科学会（招待講演）
4. 発表年	2022年

1. 発表者名 Eiji Imado, Sun Samnang, Abrar Rizal Abawa, Satoshi Asano, Kazuhiro Tsuga, Masahiro Irifune, Yukio Ago
2. 発表標題 Abnormal pain sensitivity associated with spinal microglial activation in a prenatal valproic acid-induced mouse model of autism
3. 学会等名 第55回広島大学歯学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 吾郷由希夫, 今戸瑛二, Samnang Sun, 中村庸輝, 中島一恵, 森岡徳光, 田熊一敬, 木口倫一, 浅野智志
2. 発表標題 マウス胎生期のバルプロ酸曝露は脊髄でのミクログリアの増殖とアロディニアを引き起こす
3. 学会等名 Neuro2022 (第45回日本神経科学大会・第65回日本神経化学学会大会・第32回日本神経回路学会大会 合同大会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Samnang Sun, Eiji Imado, Tran Ngoc Bao Huynh, Yoki Nakamura, Kazue Hisaoka-Nakashima, Norimitsu Morioka, Norikazu Kiguchi, Satoshi Asano, Yukio Ago
2. 発表標題 Possible role of histone deacetylase inhibition in tactile hypersensitivity in a mouse model of autism spectrum disorder
3. 学会等名 第37回創薬・薬理フォーラム岡山
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 今戸瑛二, 入船正浩, 吾郷由希夫
2. 発表標題 自閉スペクトラム症モデルマウスにおける持続的なアロディニアの発現と脊髄内ミクログリア活性化の関与
3. 学会等名 第50回日本歯科麻酔学会総会・学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名	吾郷由希夫, 内藤 恵, 川瀬啓生, 樋口桃子, 山川英訓, 大波壮一郎, 小川公一, 中邨篤史, 河内貴弘, 今戸瑛二, 田原 孟, 浅野智志, 古武弥一郎, 田熊一敬, 橋本 均
2. 発表標題	鎮痛作用を示さない低用量 μ オピオイド受容体アゴニストは自閉スペクトラム症モデルマウスの社会性行動障害を改善する
3. 学会等名	第44回日本生物学的精神医学会年会、第32回日本臨床精神神経薬理学会年会、第52回日本神経精神薬理学会年会、第6回日本精神薬学会総会・学術集会 4学会合同年会 (BPCNP/NPPP4学会合同年会)
4. 発表年	2022年

1. 発表者名	今戸瑛二, Sun Samnang, Huynh Ngoc Bao Tran, 中村庸輝, 中島一恵, 森岡徳光, 木口倫一, 浅野智志, 吾郷由希夫
2. 発表標題	胎生期のヒストン脱アセチル化酵素阻害は脊髄ミクログリアの活性化と機械的アロディニアを引き起こす
3. 学会等名	第96回日本薬理学会年会
4. 発表年	2022年

1. 発表者名	田原 孟, 今戸瑛二, 川瀬啓生, 樋口桃子, 山川英訓, 小川公一, 古武弥一郎, 田熊一敬, 橋本 均, 浅野智志, 吾郷 由希夫
2. 発表標題	TRPV1アンタゴニストAMG517は胎生期パルプロ酸投与と誘発の自閉症モデルマウスにおいて痛覚感受性の異常と社会性行動障害を改善する
3. 学会等名	第96回日本薬理学会年会
4. 発表年	2022年

1. 発表者名	横山 玲, 吾郷由希夫, 笠井淳司, 田沼将人, 林田美鈴, 島崎雄人, 樋口桃子, 五十嵐久人, 勢力 薫, 山口 瞬, 中澤敬信, 橋本謙二, 橋本 均
2. 発表標題	アールケタミンの抗うつ作用発現には島皮質が関与する
3. 学会等名	第96回日本薬理学会年会
4. 発表年	2022年

1. 発表者名 竹本智哉, 馬場優志, 北川航平, 永安一樹, 勢力 薫, 早田敦子, 笠井淳司, 吾郷由希夫, 田熊一敞, 橋本亮太, 橋本 均, 中澤敬信
2. 発表標題 ヒト染色体3q29領域欠失を導入した自閉スペクトラム症モデルマウスの社会性行動異常はオキシトシンの投与により回復する
3. 学会等名 日本薬学会第143年会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

広島大学歯学部細胞分子薬理学 https://www.hiroshima-u.ac.jp/dent/research/lab/dentistry/Cellular_and_Molecular_Pharmacology 広島大学研究者総覧 https://seeds.office.hiroshima-u.ac.jp/profile/ja.a6cd938e58eb0f72520e17560c007669.html

6. 研究組織			
	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	田熊 一敞 (Takuma Kazuhiro)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------