

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 13 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24659261

研究課題名(和文) 前頭葉ドパミン神経系の複合的調節機構に基づく新たな精神疾患治療戦略

研究課題名(英文) A novel strategy for treatment of psychiatric disorder based on a new regulation mechanism of prefrontal dopamine release

研究代表者

松田 敏夫 (Matsuda, Toshio)

大阪大学・薬学研究科(研究院)・教授

研究者番号：00107103

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円、(間接経費) 900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、精神疾患と関連する神経ステロイド欠乏状態でセロトニン(5-HT)と α_1 受容体システムの相互作用により前頭葉ドパミン(DA)遊離が促進するという新しいDA神経系調節機構について追究した。その結果、本調節機構に5-HT $1A$ 受容体が関与していること、腹側被蓋野-前頭葉DA神経系の活性化が役割を演じていること、神経ステロイド欠乏状態の作用が抑制性神経伝達物質であるGABAと関連していることを明らかにした。一方、*in vitro*系において、5-HT $1A$ 受容体と α_1 受容体の機能的発現の評価系については、単一細胞で両システムの存在を検証することができなかった。

研究成果の概要(英文)：In the present study, we examined the mechanisms underlying the synergistic effect of combined serotonin reuptake inhibition and sigma-1 receptor activation on prefrontal dopaminergic transmission in circulating steroid hormone-deficient conditions. We also tried to clarify the signal molecules which involved the interaction between the serotonin system and sigma system. We found that combined activation of serotonin-1A and sigma-1 receptors has a synergistic effect on prefrontal dopaminergic transmission under circulating steroid deficiency, VTA-PFC system plays a key role in the combined effect, and GABA(A) receptor is involved in the effect of the steroid hormone-deficient conditions. Unfortunately, we could not find the *in vitro* system including functional serotonin-1A and sigma-1 receptors in the same cell.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：境界医学・応用薬理学

キーワード：ドパミン α_1 受容体 5-HT $1A$ 受容体

1. 研究開始当初の背景

セロトニン (5-HT) 再取込み阻害薬 (SSRI) であるフルボキサミンは、シグマ 1 受容体に対して親和性を有しており、このことが他の SSRI と異なり臨床での認知機能改善作用に関わっていると考えられている。また、シグマ 1 受容体はミトコンドリアに隣接する小胞体に局在し、気分障害や神経変性疾患の治療薬の細胞内標的分子として注目されている。我々は、フルボキサミンなどの SSRI の神経伝達物質遊離に対する作用を解析し、5-HT だけでなくドパミン (DA) 量の増加を引き起こすことを示し、SSRI の薬理作用発現における DA 神経系の関与を報告した。また、最近、副腎及び睾丸摘出によりシグマ 1 受容体の内因性リガンドである神経ステロイドの血中濃度が低下した状態において、フルボキサミンの前頭葉 DA 遊離作用が増強されることを見出し、さらにこれが SSRI とシグマ 1 受容体活性化の相互作用によることを明らかにした。本成績は、精神疾患と密接に関連している前頭葉 DA 遊離がうつなどの神経ステロイドが低下した病態において 5-HT 受容体、シグマ 1 受容体のシグナル間相互作用により調節されることを示している。この病態モデルにおいて見出した“新しい複合的調節機構”に関する研究は、前頭葉 DA 神経系の機能解析だけでなく新しい創薬戦略へ発展する可能性を有しており、前頭葉 DA 神経系の複合的調節機構の分子基盤の追究とその創薬ストラテジーへの応用を考えるに至った。

2. 研究の目的

本研究では、精神疾患の病態と密接に関連している神経ステロイドの低下モデルマウスにおいて見出した前頭葉ドパミン神経系の複数標的分子による調節について、その基盤となる新しいシグナル間相互作用の解明と、その成果に基づく創薬のための新規薬効評価系の構築を目指す。

3. 研究方法

(1) 相互作用に関わる 5-HT 受容体サブタイプの同定: 5-HT_{1A} 受容体に加えて、5-HT₇ 受容

体の前頭葉 DA 遊離複合的調節における役割について受容体拮抗薬を用い検討する。方法論としては、神経ステロイド欠乏の副腎/睾丸摘出マウスを用い、シグマ 1 受容体アゴニストとの併用効果について *in vivo* 脳マイクロダイアリシス法により検討する。

(2) 5-HT 受容体とシグマ 1 受容体のシグナル間相互作用の神経回路の同定: 上述の結果に基づき、前頭葉 DA 遊離に関わっている 5-HT 受容体サブタイプのアゴニスト並びにシグマ 1 受容体アゴニスト刺激による副腎/睾丸摘出マウス脳各部位の c-Fos 発現を検討し、5-HT 受容体サブタイプとシグマ 1 受容体のシグナルの相互作用に関わる神経回路を同定する。

(3) 相互作用発現の神経ステロイドによる制御機構: シグマ 1 受容体は細胞内の小胞体 (ER) に局在し、そのシグナルは細胞内 Ca²⁺ と関連している。また、神経ステロイドはシグマ 1 受容体を介して神経伝達物質や脱分極刺激の神経細胞 Ca²⁺シグナルを増強すること、シグマ 1 受容体リガンドの細胞内 Ca²⁺レスポンスに対する作用が抗うつ作用と関連していることが報告されている。これら報告を基に本研究では、5-HT 受容体サブタイプとシグマ 1 受容体のシグナル間相互作用に対する神経ステロイドの作用について、DA 神経細胞である SH-SY5Y 細胞を用い DA 遊離や細胞内 Ca²⁺レスポンスを指標とし検討する。

(4) 相互作用に関わる細胞内シグナル分子の同定: 相互作用発現時に変動する細胞内シグナル分子の網羅的解析: 上記(3)の計画と関連し、SH-SY5Y 細胞での 5-HT 受容体シグナルとシグマ 1 受容体シグナルの相互作用で活性化を示す細胞内シグナル分子について、特に Ca²⁺、cAMP、MAPK シグナル系に焦点を絞り DNA マイクロアレイ解析を行い、5-HT 受容体サブタイプとシグマ 1 受容体のシグナル間相互作用に関わるキーとなる分子を明らかにする。

(5) 相互作用に基づく薬効評価系の構築: 上記の研究成果に基づき、SH-SY5Y 細胞で DA 遊

離、Ca²⁺レスポンス、あるいは相互作用に関わる細胞内候補分子の活性を指標にする薬効評価系の構築を検討する。さらに、本評価系での指標のシグナル感度を上げるため、相互作用に関わる重要な分子の強制発現細胞を作製し、よりシンプルな薬効評価系の構築を図る。

4. 研究成果

(1) 相互作用に関わる 5-HT 受容体サブタイプの同定:種々の 5-HT 受容体拮抗薬の実験から、5-HT_{1A} 受容体に関わっていることが示された。また、シグマ 1 受容体に親和性を示さない SSRI、シタロプラムと 5-HT_{1A} 受容体アゴニストの併用によりフルボキサミンと同様の作用が確認された。

(2) 5-HT 受容体とシグマ 1 受容体のシグナル間相互作用の神経回路の同定:前頭葉 DA 遊離増強作用を示す条件において、前頭葉へ投射する DA 神経の起始核である腹側被蓋野の c-Fos 発現量が増加することを見出した。すなわち、5-HT_{1A} - シグマ 1 受容体相互作用には腹側被蓋野 - 前頭葉 DA 神経系の活性化を伴うことが示された。

(3) 相互作用発現の神経ステロイドによる制御機構:神経ステロイドが GABA_A 受容体の内因性リガンドであることに着目し、神経ステロイド低下状態における脳内 GABA_A 受容体機能をペントバルビタール誘発睡眠時間の測定により評価した。その結果、神経ステロイド低下状態では正常状態と比較してペントバルビタール誘発睡眠時間が短縮しており、脳内 GABA_A 受容体機能が低下することを見出した。また、in vivo 脳微小透析法を用いて、末梢の神経ステロイドが低下した状態下での 5-HT_{1A} 受容体 - シグマ 1 受容体の相互作用による DA 遊離増強作用が GABA_A 受容体アゴニストであるジアゼパムにより抑制されることを見出した。さらに、神経ステロイドが正常な状態であっても、GABA_A 受容体アンタゴニストであるピクロトキシンを投与することで、DA 遊離増強作用が見られることを示した。これらの成績は、5-HT_{1A} - シグマ 1 受容体の

相互作用における神経ステロイド低下の役割として、GABA_A 受容体機能低下の可能性を示す。

(4) 相互作用に関わる細胞内シグナル分子の同定: SH-SY5Y 細胞で、5-HT_{1A} とシグマ 1 受容体アゴニストによる Ca²⁺レスポンスについて種々検討したが、相互作用に基づくレスポンスは見いだせなかった。すなわち、これらの相互作用が一つの細胞レベルで起こるのではなく、相互作用発現につながるこれら受容体の局在が異なっていることが示された。

(5) 相互作用に基づく薬効評価系の構築:上記の結果により、単一細胞系での薬効評価系の構築が困難であることが考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2 件)

Hiramatsu N, Ago Y, Hasebe S, Nishimura A, Mori K, Takuma K, Matsuda T. Synergistic effect of 5-HT_{1A} and σ 1 receptor activation on prefrontal dopaminergic transmission under circulating steroid deficiency. *Neuropharmacology*, 査読有, 75, 53-61, 2013.

Matsuda T. Neuropharmacological studies on brain 5-HT_{1A} receptor using the selective agonist osemozotan. *Biol Pharm Bull*, 査読有, 36(12):1871-1822, 2013.

〔学会発表〕(計 6 件)

吾郷由希夫, 平松直樹, 西村 明, 田熊一敬, 松田敏夫. セロトニントランスポーター阻害とシグマ 1 受容体活性化の相互作用による前頭葉ドパミン遊離調節. 第 7 回トランスポーター研究会年会, 京都, 2012 年 6 月 9-10 日.

森 和也, 平松直樹, 西村 明, 吾郷由希夫, 田熊一敬, 松田敏夫. セロトニン_{1A} 受容体、₁ 受容体相互作用による大脳皮質ドパミン遊離調節における GABA_A 受容体の関与. 第 123 回日本薬理学会近畿部会, 名古屋, 2013 年 7 月 12 日.

森 和也, 平松直樹, 渡部雄二, 吾郷由希夫, 田熊一敬, 松田 敏夫. 前頭皮質ドパ

ミン遊離の新しい調節機構：GABA_A、セロトニン_{1A}、 σ_1 受容体の機能的相互作用.
第 63 回日本薬学会近畿支部総会・大会, 京田辺, 2013 年 10 月 12 日.

森 和也, 平松直樹, 渡部雄二, 吾郷由希夫, 田熊一敬, 松田敏夫. GABA_A 受容体はセロトニン_{1A} 受容体、 σ_1 受容体相互作用による前頭葉ドパミン遊離を調節する. 第 124 回日本薬理学会近畿部会, 京都, 2013 年 11 月 1 日.

Hiramatsu N, Ago Y, Mori K, Nishimura A, Takuma K, Matsuda T. Enhancement of prefrontal dopamine release by combined activation of 5-HT_{1A} and σ_1 receptors in adrenalectomized/castrated mice. Neuroscience 2013, SfN's 43rd annual meeting, San Diego, USA, November 9-13, 2013.

平松直樹, 森 和也, 渡部雄二, 吾郷由希夫, 田熊一敬, 松田 敏夫. セロトニン_{1A} 受容体と σ_1 受容体活性化による大脳皮質ドパミン遊離調節への GABA_A 受容体の関与. 第 87 回日本薬理学会年会, 仙台, 2014 年 3 月 19-21 日.

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

松田 敏夫 (MATSUDA, Toshio)
大阪大学・薬学研究科・教授
研究者番号 : 0 0 1 0 7 1 0 3