

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 9 日現在

機関番号：32203

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26860942

研究課題名(和文) プレシナプスドーパミン神経伝達異常に着目した新規抗精神病作用の標的探索

研究課題名(英文) Exploration of novel targets for treating schizophrenia

研究代表者

有銘 預世布 (Arime, Yosefu)

獨協医科大学・医学部・助教

研究者番号：80609404

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：本課題では、現存の抗精神病薬であるハロペリドール及びオランザピンにおいて臨床投薬状況をマウスで一定期間模倣する方法を開発した。また、フェンサイクリジンを慢性投与したマウスがワーキングメモリーに障害を有しており、プレシナプスドーパミン神経の軽微な異常を含むワーキングメモリー障害との関連が示唆された複数の脳部位を同定した。これらは新規の抗精神病作用の標的を解明する一助となることが考えられる。

研究成果の概要(英文)：We performed in vivo dopamine D2 receptor occupancy analysis during continuous antipsychotic treatment (haloperidol or olanzapine), and developed the clinically-relevant antipsychotic dose regimen in mice. We observed working memory in chronic saline- and phencyclidine-treated mice, and they showed reduced correct responses in the working memory task, suggesting impaired working memory. We also identified brain regions relevant to working memory impairments in this mouse model. Our results may lead to the identification of novel therapeutic targets for patients with schizophrenia.

研究分野：精神神経科学

キーワード：統合失調症 モデルマウス 抗精神病薬 受容体占有率 行動 ワーキングメモリー

1. 研究開始当初の背景

統合失調症は生涯有病率が約 0.8~0.9%程度で多くが思春期・青年期という 10 代後半から 20 代に発症する。幻覚・妄想などの陽性症状や感情鈍麻・社会的引きこもりなどの陰性症状に加えて、実行機能やワーキングメモリーなどの認知機能が障害され、治療が生涯に渡って続き、社会的・経済的にも損失の極めて大きな慢性の精神疾患である。また、統合失調症治療の中心となる現存の抗精神病薬は陽性症状に対する治療効果を有するものの陰性症状や認知機能障害に対する効果は極めて限定的である。これまで陽電子放射断層撮像法 (PET) などの脳機能画像研究から、抗精神病薬による治療域として線条体で 65~80%のドーパミン D2 受容体の占有率が明らかにされている。しかし、マウスなどのげっ歯類では抗精神病薬の血中半減期がヒトと比べて極めて短時間であることが分かっており、従来動物モデルを用いた研究における皮下・腹腔内等への急性及び慢性投与では持続的な線条体ドーパミン D2 受容体占拠が実現できないという重大な問題があった。また、現在有効な治療法がなく、かつ機能予後に直結した統合失調症患者のワーキングメモリー障害において背外側前頭前野皮質等の関連を示す研究が多数報告されているが、未だ病態や障害の神経回路基盤の理解は十分ではない。そのため、陽性症状の寛解状態を維持しながら、なおかつワーキングメモリーなどの認知機能の障害を改善させる治療法の開発が期待されている。

2. 研究の目的

本課題の目的は、現存の抗精神病薬による臨床投薬状況をマウスにおいて模倣する方法を開発し、統合失調症のマウスモデルにおけるワーキングメモリー障害に着目して新規抗精神病作用の標的を探索することである。

3. 研究の方法

(1) in vivo ドーパミン D2 受容体占有率
抗精神病薬などの薬物が薬理作用の標的としている受容体等の in vivo における占有率を解析するには、これまで放射性標識体を用いた手法によって行われてきたが、本課題では放射性標識体を使用する必要がなく、放射性代謝物由来など対象物以外の影響を受けない、対象薬物を高感度かつ高選択的に同定・定量することを可能にする実験装置である液体クロマトグラフィー接続型質量分析器 (LC-MS/MS) を用いた。定型抗精神病薬のハロペリドールあるいは非定型抗精神病薬のオランザピンを浸透圧ポンプにより皮下投与した雄性 C57BL/6J マウスと選択的ドーパミン D2 受容体アンタゴニストであるラクロプリドを用いてマウス線条体における in vivo ドーパミン D2 受容体占有率を解析した。

(2) ワーキングメモリー

統合失調症のマウスモデルとしてフェンサイクリジン (PCP) を慢性投与した雄性 C57BL/6J マウス (PCP 慢性投与マウス) と生理食塩水を慢性投与したマウス (コントロールマウス) を用い、ワーキングメモリーの評価には T 字型迷路を用いた遅延非見本合わせ課題を用いた。また、PCP 慢性投与マウス及びコントロールマウスのワーキングメモリーに関わる脳領域を同定するため、神経活動に応答して誘導される c-Fos タンパク質の免疫組織化学的解析を行った。

4. 研究成果

(1) in vivo ドーパミン D2 受容体占有率
LC-MS/MS を用いた in vivo ドーパミン D2 受容体占有率の解析の結果、線条体 D2 受容体占有率が投与 3 日目ではハロペリドールでは 69.8%、オランザピンでは 69.1%となり、投与 13 日目ではハロペリドールでは 46.4%、オランザピンでは 70.4%となる両薬剤の持続投与方法を見出した。この結果は、本研究によって開発したオランザピンの投与方法は少なくとも 2 週間程度、ハロペリドールでは少なくとも 3 日間程度は臨床用量を反映した投与方法 (線条体で 65~80%のドーパミン D2 受容体の占有率) であることを示唆している。今後はより長期的に両薬剤で臨床用量を反映した投薬状況をマウスで実現する手法の開発を行う。

(2) ワーキングメモリー

PCP 慢性投与マウスは T 字型迷路を用いた遅延非見本合わせ課題において、コントロールマウスと比較して有意に正答率が低下していた。この結果は、PCP 慢性投与マウスがワーキングメモリーの障害を有することを示している。本課題試行後の c-Fos タンパク質の発現分布を広範な脳領域でマッピングした結果、コントロールマウスと比較して前辺縁皮質 2-3 層、背内側線条体、背側海馬 CA1 領域における c-Fos 陽性細胞数の有意な増加を見出した。一方、下辺縁皮質、前部帯状回皮質、背外側線条体、視床、上記以外の背側海馬領域及び腹側海馬、黒質、腹側被蓋野においては有意な差は認められなかった。また、黒質、腹側被蓋野におけるドーパミン神経細胞の指標であるチロシン水酸化酵素と c-Fos 共陽性の割合が、PCP 慢性投与マウスの腹側被蓋野の interfascicular nucleus において低下していた。以上の結果は、ワーキングメモリー負荷時の PCP 慢性投与マウスにおける特定の領域での活動異常を示唆しており、ワーキングメモリー障害の神経回路基盤になっていることが考えられる。以上、(1)と(2)の本成果は、臨床知見に基づいたマウスの抗精神病薬投薬状況下におけるワーキングメモリー障害に対する新規抗精神病作用の標的を明らかにする研究の端緒となることが期待される。

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](計2件)

1. Kasahara Y, Arime Y, Hall FS, Uhl GR, Sora I. Region-specific dendritic spine loss of pyramidal neurons in dopamine transporter knockout mice. *Current Molecular Medicine*, 15:3 237-244 (2015)
2. Arime Y, Fukumura R, Miura I, Mekada K, Yoshiki A, Wakana S, Gondo Y, Akiyama K. Effects of background mutations and single nucleotide polymorphisms (SNPs) on the Disc1 L100P behavioral phenotype associated with schizophrenia in mice. *Behavioral and Brain Functions*, 10:45 (2014)

[学会発表](計9件)

1. Arime Y, Akiyama K. Investigation of anatomical basis underlying working memory impairment in chronic phencyclidine-treated mice. The Society for Neuroscience (SfN) 46th Annual Meeting, San Diego, CA, USA (2016). [poster]
2. 有銘預世布, 秋山一文. 統合失調症のワーキングメモリー障害に関わる神経回路基盤の探索. 第8回光操作研究会, 慶應義塾大学 三田キャンパス(東京都), 2016年9月29日.(ポスター)
3. 有銘預世布, 秋山一文. 統合失調症のワーキングメモリー障害に関わる神経回路基盤の探索. 新学術領域 先端モデル動物支援プラットフォーム 若手支援技術講習会, 蓼科グランドホテル滝の湯(長野県茅野市), 2016年9月15日.(ポスター)
4. 笠原好之, 久保有美子, 森屋由紀, 有銘預世布, 富田博秋, 曾良一郎. モノアミン神経伝達に関わる遺伝子改変マウスを用いた精神疾患研究. アルコール・薬物依存関

連学会合同学術総会, 神戸国際会議場(兵庫県神戸市), 2015年10月12日.(講演)

5. Kasahara Y, Arime Y, Hall FS, Uhl GR, Tomita H, Sora I. Region-specific dendritic spine loss of pyramidal neurons in dopamine transporter knockout mice. The Society for Neuroscience (SfN) 44th Annual Meeting, Washington, DC, USA (2014). [poster]
6. Kubo Y, Kasahara Y, Arime Y, Hall FS, Takamatsu Y, Ikeda K, Uhl GR, Sora I, Tomita H. Differences in responsiveness between methamphetamine, nisoxetine and methylphenidate may reflect specific developmental characteristics in juvenile DAT KO mice. The Society for Neuroscience (SfN) 44th Annual Meeting, Washington, DC, USA (2014). [poster]
7. 久保由美子, 笠原好之, 有銘預世布, 曾良一郎, 富田博秋. ドーパミントランスporter欠損マウスのADHD様行動における発達段階特異的な薬剤応答性. 第36回日本生物学的精神医学会, 奈良県文化会館・新公会堂(奈良県奈良市), 2014年9月30日.(ポスター)
8. 久保由美子, 笠原好之, 富田博秋, 有銘預世布, 高松幸雄, 池田和隆, 曾良一郎. メチルフェニデートによるドーパミントランスporter欠損マウスのADHD様行動の改善は発達段階によって異なる. 第37回日本神経科学大会, パシフィコ横浜(神奈川県横浜市), 2014年9月13日.(ポスター)
9. 有銘預世布, 秋山一文. フェンサイクリジン慢性投与マウスが示すワーキングメモリー障害. 第37回日本神経科学大会, パシフィコ横浜(神奈川県横浜市), 2014年9月13日.(ポスター)

〔図書〕(計1件)

1. Hall FS, Arime Y, Saber Y, Sora I. Contribution of mouse genetic models to our understanding of nicotine dependence. In: Negative Affective States and Cognitive Impairments in Nicotine Dependence: Academic Press, 111-132 (2016)

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等
<http://www.dokkyomed.ac.jp/dusm/kousei/407.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

有銘 預世布 (Arime Yosefu)
獨協医科大学・医学部・助教
研究者番号：80609404

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()