

平成 28 年 6 月 20 日現在

機関番号：37104

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26860951

研究課題名(和文)ホスホジエステラーゼに着目した精神疾患の病態解明および治療法開発

研究課題名(英文)Role of PDEs in antipsychotic effects in hippocampal dentate gyrus.

研究代表者

黒岩 真帆美(Kuroiwa, Mahomi)

久留米大学・医学部・助教

研究者番号：20585690

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：DISC1遺伝子改変マウスに隔離飼育によるストレスを加え、脳内での細胞内シグナルの変化を検討した結果、側坐核と線条体において隔離飼育前後のPDEの機能に変化がみられることが明らかとなり、海馬歯状回においても同様の変化がある可能性が示唆された。

また、C57/BL6マウスを用いた慢性拘束ストレスモデルにおいて、フルオキセチン単独投与では、軽度ストレス負荷マウスでのみうつ様行動を抑制し、ドーパミンD1受容体アゴニストの併用で、重度ストレス負荷マウスでのうつ様行動の抑制を示したことから、抗うつ薬の慢性投与により惹起される歯状回のD1受容体シグナルの増強が、抗うつ作用に関与すると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Male DISC1-DN-Tg-PrP and their male littermate Wild-type mice were group-housed or isolated from 5 weeks of age. After the isolation stress, the PDE functions were altered in the nucleus accumbens and in the striatum. In addition, the same result was suggested in the hippocampal dentate gyrus.

Furthermore, we observed that chronic treatment of C57BL/6 mice with fluoxetine induced the expression of D1 receptors in granule cells. The high expression of D1 receptors resulted in activation of cAMP/PKA signaling in the dentate gyrus. In behavioral studies, D1 receptor agonism enhanced antidepressant action of fluoxetine in mice subjected to chronic restraint stress. Thus, D1 receptors in granule cells, induced by chronic antidepressants, enhance antidepressant effects under stressed conditions. Dopamine D1 receptors may be a therapeutic target of depression.

研究分野：中枢神経薬理

キーワード：ホスホジエステラーゼ 海馬歯状回 ドーパミン 抗うつ薬

## 1. 研究開始当初の背景

DISC1(Disrupted-In-Schizophrenia 1)は神経細胞の突起伸展、移動、増殖など脳神経発達の過程に重要な役割を果たしている。DISC1 遺伝子改変 (変異型 DISC1 過剰発現) マウスを、ヒトの思春期に相当する期間中1匹ずつ隔離飼育を行い心理的なストレスを負荷すると、ドーパミン合成の律速酵素であるチロシンヒドロキシラーゼの発現量の減少およびドーパミン D2 受容体の発現量の増加がみられ、行動学的にも統合失調症様の行動異常を呈する (Niwa et al., Science, 2013)。興味深いことに、通常飼育された DISC1 遺伝子改変マウスや隔離飼育を行った野生型マウスではこれらの異常は認められないため、ヒトの統合失調症において、遺伝因子と思春期の環境因子の相乗作用が発症要因であるとする two-hit-theory に合致した非常に有益な動物モデルであると考えられる。

また、基礎研究・臨床試験ともに、前頭前皮質のドーパミン D1 受容体シグナルの活性化が統合失調症の陰性症状・認知機能障害を改善する可能性が数多く報告されている。したがって、ドーパミン D1 受容体シグナルおよびその下流の cAMP/PKA シグナルは、統合失調症およびうつ病などの精神疾患の病態に関連する要因ならびに治療ターゲットとなり得る可能性が高いと考えた。

## 2. 研究の目的

当研究室では、うつ病モデルとして広く用いられている慢性拘束ストレス付加マウスを用いた研究により、ドーパミン D1 受容体アゴニストが抗うつ薬の抗うつ作用を増強することを見だし、現在、ドーパミン D1 受容体をターゲットとした薬物と抗うつ薬との併用療法の開発を行っている。

しかしながら、現在臨床応用可能なドーパミン D1 受容体アゴニストは存在しないことから、創薬研究の候補とすることは困難である。そこで我々はサイクリック AMP (cAMP) 分解酵素であるホスホジエステラーゼ (PDE) に着目した。PDE は、細胞内 cAMP/PKA シグナル伝達を制御する重要な役割を担っている。cAMP はドーパミン D1 受容体シグナルの下流に位置する分子であることから、PDE の阻害はドーパミン D1 受容体シグナルと類似した細胞内シグナルを発生させることが期待される。PDE 阻害薬はすでに臨床応用されているものもあり、基礎研究の成果から臨床応用への発展も現実性がある。精神疾患の病態に関連の深い PDE サブタイプならびに治療効果が高く副作用発現の可能性の低い PDE サブタイプを特定することは新たな精神疾患治療薬のターゲット探索において大変重要である。

したがって、本研究では、DISC1 遺伝子の異常と精神疾患との関連性を精査するとともに、治療効果が高く安全性の高い PDE サブタイプを特定し、PDE 阻害薬を用いた新た

な精神疾患治療薬の開発基盤となる研究を行った。

## 3. 研究の方法

1) DISC1 遺伝子改変マウスおよび慢性拘束ストレス負荷マウスのそれぞれに、個別飼育ストレスの有無を追加した病態モデル動物を作成し、行動学的表現型を評価する。

2) リアルタイム RT-PCR 法による遺伝子発現の変化、ウエスタンブロット法によるタンパク質発現量およびタンパク質修飾の変化を解析し、各種精神疾患モデル動物の各脳部位での生化学的变化を解析する。

3) 種々の PDE サブタイプに対する阻害薬を各病態モデルマウスに投与し、行動学的な異常に対する治療効果、有害反応を解析する。

## 4. 研究成果

DISC1 遺伝子改変マウスおよびその野生型マウスを、生後5週齢から集団飼育群と隔離飼育によるストレスを加えた群に分けて3週間飼育し、精神疾患との関連の大きい各脳部位(大脳皮質、側坐核、海馬歯状回、線条体)における細胞内シグナルの変化を検討したところ、側坐核と線条体において隔離飼育ストレス前後の PDE の機能に変化がみられることが明らかとなった。また、海馬歯状回においても同様の変化がある可能性が示唆された。

また、C57/BL6 マウスへの抗うつ薬の慢性投与により、海馬歯状回における D1 受容体シグナルが増強することを明らかとした。さらに、行動薬理学的な抗うつ効果の評価を行った結果、C57/BL6 マウスを用いた慢性拘束ストレスモデルにおいて、フルオキサセチン単独投与群は、軽度ストレス負荷マウスではうつ様行動を抑制したが、重度ストレス負荷マウスではうつ様行動の抑制効果は得られなかった。しかしながら、フルオキサセチンとドーパミン D1 受容体アゴニストの併用投与群は、重度ストレス負荷マウスにおいてうつ様行動の抑制を示したことから、抗うつ薬の慢性投与により惹起される海馬歯状回のドーパミン D1 受容体シグナルの増強が、抗うつ作用に関与すると考えられる。

## 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1件)

Kitahara Y, Ohta K, Hasuo H, Shuto T, Kuroiwa M, Sotogaku N, Togo A, Nakamura K, Nishi A.

Chronic Fluoxetine Induces the Enlargement of Perforant Path-Granule Cell Synapses in the Mouse Dentate Gyrus.

PLoS One. 査読有 2016 Jan 20;11(1):e0147307.

doi: 10.1371/journal.pone.0147307.

〔学会発表〕(計 4 件)

Takatoshi Hikida, Makiko Morita, Mahomi Kuroiwa, Tom Macpherson, Taichi Itou, Takahide Shuto, Naoki Sotogaku, Minae Niwa, Akira Sawa, Akinori Nishi  
Social isolated DISC1 mutant mice displayed high sensitivity to chronic cocaine exposure and rolipram treatment.  
54<sup>th</sup> American College of Neuropsychopharmacology (ACNP)  
2015.12.6-10 Hollywood (USA)

Kuroiwa M, Shuto T, Sotogaku N, Oh YS, Nishi A.  
Chronic treatment with antidepressants enhances dopamine D1 receptor signaling in the hippocampal dentate gyrus  
Annual Meeting of Society for Neuroscience (SFN)  
2015.10.21 Chicago (USA)

Shuto T, Kuroiwa M, Sotogaku N, Nishi A.  
Dopamine D1 receptor activation enhances antidepressant effects of SSRI in a mouse model of depression  
Annual Meeting of Society for Neuroscience (SFN)  
2015.10.21 Chicago (USA)

黒岩 真帆美、首藤 隆秀、外角 直樹、森田 真規子、澤 明、疋田 貴俊、西昭徳  
DISC1 マウスの隔離飼育に対するドパミンシグナル応答: ホスホジエステラーゼの役割  
第 45 回神経精神薬理学会  
2015 年 9 月 24 日  
タワーホール船堀 (東京・船堀)

黒岩 真帆美、首藤 隆秀、外角 直樹、森田 真規子、澤 明、疋田 貴俊、西昭徳  
DISC1 マウスの隔離飼育に対する cAMP/PKA シグナル応答: ホスホジエステラーゼの役割  
第 38 回日本神経科学大会  
2015 年 7 月 28 日  
神戸国際会議場 (兵庫・神戸)

黒岩 真帆美、首藤 隆秀、外角 直樹、西 昭徳  
抗うつ薬投与の慢性投与は海馬歯状回ドーパミン D1 受容体シグナルを増強する  
第 58 回日本薬理学会年会  
2015 年 3 月 18 ~ 20 日  
名古屋国際会議場 (愛知・名古屋)

Nishi A, Kuroiwa M, Shuto T, Sotogaku N, Morita M, Sawa A, Hikida T.  
Altered regulation of cAMP/PKA signaling by PDE10A and PDE4 in DISC1 mutant mice.  
Annual Meeting of Society for Neuroscience (SFN)  
2014.11.15-19 Washington D.C. (USA)

Nishi A, Kuroiwa M, Shuto T, Snyder GL.  
Role of PDE-mediated signaling and its crosstalk in brain function.  
29th CINP World Congress  
2014.6.22-26 Vancouver (Canada)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕  
出願状況 (計 0 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 0 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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

黒岩 真帆美 (KUROIWA MAHOMI)

久留米大学・医学部・助教

研究者番号：20585690

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：