The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	PACAPヘテロ欠損マウスを用いた精神疾患の分子機構に関する検討
Author(s)	狭間, 啓佑
Citation	大阪大学, 2014, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34386
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（　　狭間　啓佑　　）	
論文題名	PACAPヘテロ欠損マウスを用いた精神疾患の分子機構に関する検討

論文内容の要旨

最近の全ゲノム関連解析により，精神疾患の病態には多数のリスク遺伝子座など遺伝的要因の関与が示唆されるものの，一般にその発症寄与率は小さいことが明らかにされている．従って，精神疾患の成因として，多くの疾患脆弱性遺伝子に非遺伝的要因が複雑に相互作用して発症に至る機序が考えられている．しかしながら，精神疾患の病態基盤や分子メカニズムはほとんど不明であるのが現状である．

Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (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．本研究室ではこれまでに，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を見出しており，特に，PACAP遺伝子の統合失調症リスク多型が，統合失調症患者の視覚性記憶の低下や海馬体積の減少と関連する結果が得られている．また，PACAPホモ欠損 ($PACAP^{-/-}$) マウスの作製および行動薬理学的解析を行った結果，$PACAP^{-/-}$マウスは新奇環境下における自発運動量の増加，感覚情報処理能力の障害，記憶の保持機能の低下，うつ様行動などを示すことが明らかになっている．加えてこれらの行動異常は非定型抗精神病薬risperidoneやセロトニン2 ($5\text{-}HT_2$) 受容体拮抗薬ritanserinによって正常化することから，$PACAP^{-/-}$マウスが行動異常を示す分子基盤として5-HT神経系の亢進が示唆される．また，$PACAP^{-/-}$マウスの異常な表現型の一部は飼育環境により変化することも明らかになっており，PACAP機能の異常が環境ストレスなどの非遺伝的要因に対する反応性を変化させること，さらにそれが精神疾患の発症に寄与している可能性が示されている．しかし，上述のように精神疾患は遺伝的要因に加え，非遺伝的な要因が関与して発症すると考えられることから，遺伝的要因のみで表現型を示す$PACAP^{-/-}$マウスからの知見だけでは，遺伝的要因と非遺伝的要因からなる精神疾患の発症機序を十分には理解できないものと考えられる．

PACAPヘテロ欠損 ($PACAP^{+/-}$) マウスは，脳内PACAP発現量が野生型マウスの30%程度まで低下しているものの，定常状態における精神疾患様の行動異常をほとんど示さない．そこで本研究では，非遺伝的な要因に対する表現型を指標に，$PACAP^{+/-}$マウスの応答処理機能を評価することにより，遺伝的要因と非遺伝的要因の相互作用におけるPACAPの役割の解明を目指した．具体的には，非遺伝的要因として統合失調症など様々な精神疾患の病態に関与することが示唆されている$5\text{-}HT_2$受容体の作動薬であり，幻覚を惹起することが知られている(±)-1-(2, 5-dimethoxy-4-iodophenyl)-2-aminopropane (DOI) を$PACAP^{+/-}$マウスに負荷して解析することによって，次の知見を得た．(1) 雌親$PACAP^{+/-}$マウスから産まれたF_1世代の$PACAP^{+/-}$マウスは，同腹の野生型マウスと比べてオープンフィールドにおける自発運動量および中央滞在時間の増加を示した．しかし，雌親野生型マウスから産まれたF_1世代の$PACAP^{+/-}$マウスは，同腹の野生型マウスと比べてオープンフィールドにおける行動に差は認められない．(2) 同腹野生型マウスと比較して$PACAP^{+/-}$マウスは，DOI投与により過剰なHead Twitch Response (HTR, 幻覚効果の指標) を示し，野生型マウスのPrepulse Inhibition (PPI, 感覚情報処理機能の指標) に影響を与えない濃度のDOI投与により$PACAP^{+/-}$マウスのPPIが低下した．(3) DOI投与後に認められる血漿中コルチコステロンの上昇と体温の低下は，両遺伝子型間で反応性に差は認められなかった．(4) HTR, PPI, コルチコステロン放出に関与することが知られている脳領域での組織化学的解析から，体性感覚皮質特異的にDOI投与後のc-Fos陽性細胞数が，野生型マウスと比較して$PACAP^{+/-}$マウスで有意に上昇し，特に体性感覚皮質に存在する$5\text{-}HT_{2A}$受容体を発現していない細胞において，c-fos陽性細胞数が有意に増加することが分かった．また，うつ病や心的外傷後ストレス障害様の症状を引き起こす慢性社会的敗北ストレスを用いた解析から，次の知見を得た．(5) 慢性社会的敗北ストレスにより社会性行動が低下するマウス (susceptible) は，社会性行動が低下しないマウス (resilient) や非ストレス負荷群と比較して，内側前頭前野のPACAP mRNA量が有意に低下していた．(6) 抗うつ薬であるfluoxetineの28日間の投与により，susceptible群において社会性行動の改善とともに，前頭前皮質のPACAP mRNAが上昇した．(7) $PACAP^{+/-}$マウスは10日間の社会的敗北ストレスを負荷されても，susceptible群になるマウスは認められなかった．(8) 1日および3日間の社会的敗北ストレス負荷による血漿中コルチコステロン濃度の上昇が，野生型マウスと比較して$PACAP^{+/-}$マウスにおいて有意に減弱していた．さらに，10日間の社会的敗北ストレス負荷48時

間後の血漿中コルチコステロン濃度は，PACAP$^{+/-}$マウスおよび野生型マウスのresilient群と比較して野生型マウスのsusceptible群でのみ上昇した.

これらの結果は，PACAPシグナル系が大脳皮質における5-HT$_2$受容体依存的な感覚情報処理系に重要な役割を担っていることを示し，5-HT$_2$受容体が関与する精神疾患に対して，内因性のPACAPが保護的に機能する可能性を示唆している．また，慢性社会的敗北ストレスによって誘発される情動行動の障害に，PACAPシグナルが関与している可能性を示した．今後，PACAPシグナルに関する研究が進展し，精神疾患の病態解明に役立つことが期待される. (2492字)

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（　　狭間　啓佑　　）		
	（職）	氏　　名
論文審査担当者	主 査　　教 授	橋本　　均
	副 査　　教 授	八木　清仁
	副 査　　教 授	松田　敏夫
	副 査　　教 授	上島　悦子

論文審査の結果の要旨

「Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) ヘテロ欠損マウスを用いた精神疾患の分子機構に関する検討」と題する学位論文において狭間は、セロトニン2A受容体 (5-HT_{2A}R) 刺激薬である(±)-1-(2, 5-dimethoxy-4-iodophenyl)-2-aminopropane (DOI) の投与、または慢性社会的敗北ストレス (CSDS) を負荷した際のPACAPヘテロ欠損 ($PACAP^{+/-}$) マウスの表現型を詳細に解析した。この研究は、PACAPが非遺伝的要因に対する反応性を変化させることを見出し、精神疾患の発症に関与する機序の一つを提示した点において意義がある研究である。

以下、本学位論文で発表された研究成果とその評価を示す。

最近の全ゲノム関連解析により、精神疾患の病態には多数のリスク遺伝子座など遺伝的要因の関与が示唆されるものの、一般にその発症寄与率は小さいことが明らかにされている。従って、精神疾患の成因として、多くの疾患脆弱性遺伝子に非遺伝的要因が複雑に相互作用して発症に至る機序が考えられている。しかし、詳細な分子基盤は不明な点が多く、重要な研究課題である。神経薬理学分野では、PACAPホモ欠損 ($PACAP^{-/-}$) マウスの作製および行動薬理学的解析から、$PACAP^{-/-}$マウスが新奇環境下における自発運動量の増加、感覚情報処理能力の障害、記憶の保持機能の低下、うつ様行動などを示すことを明らかにしている。加えてこれらの行動異常は非定型抗精神病薬であるrisperidoneによって正常化することから、PACAPがこれら主要な精神疾患の脆弱性遺伝子である可能性を提示している。そこで狭間は、PACAPの異常が非遺伝的要因に対する反応性に与える影響を解明することを目指し、$PACAP^{+/-}$マウスにDOIを投与またはCSDSを負荷した際の表現型解析を行った。その結果、以下の各点を明らかにした。

1. 野生型マウスと比較して $PACAP^{+/-}$マウスは、DOI によって過剰な head twitch response の上昇および prepulse inhibition 障害を示した。
2. 野生型マウスと比較して $PACAP^{+/-}$マウスの体性感覚皮質では、DOI を投与することにより、5-HT_{2A} 受容体を発現していない細胞における c-fos 陽性細胞数が有意に増加した。
3. CSDS によって誘導される社会性行動の低下を示す susceptible マウスでは、内側前頭前野の PACAP mRNA 発現量が有意に減少していた。
4. 抗うつ薬である fluoxetine を28日間投与することにより、susceptible 群において社会性行動の改善とともに内側前頭前野の PACAP mRNA が上昇した。
5. 野生型マウスと比較して $PACAP^{+/-}$マウスは、CSDS によって誘発される社会性行動の低下やスクロース嗜好性の低下を示さず、コルチコステロン濃度上昇の減弱を示した。

以上の結果は、PACAPシグナル系が大脳皮質における5-HT_2受容体依存的な感覚情報処理機構に重要な役割を担っていることを示し、PACAPシグナル系の機能低下が、5-HT_2受容体が関与する精神疾患病態の脆弱性要因となる可能性を示唆する。また、CSDSによって誘発される情動行動の障害にも、PACAPシグナルが関与する可能性を示唆している。これら本研究の成果は、精神疾患発症における遺伝子－環境相互作用の分子基盤解明につながる研究であるといえる。

以上の通り、本研究の成果は、博士（薬学）の授与に値するものであると判断する。