OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	PACAP-PAC1シグナルの分子機構の解明と精神疾患創薬に向けた薬理学研究
Author(s)	新谷, 勇介
Citation	大阪大学, 2023, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/92108
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　（　新谷　勇介　）	
論文題名	PACAP-PAC1シグナルの分子機構の解明と精神疾患創薬に向けた薬理学研究

論文内容の要旨

下垂体アデニル酸活性化ポリペプチドpituitary adenylate cyclase-activating polypeptide（PACAP）は中枢および末梢神経系に広く発現する神経ペプチドであり，神経保護因子，神経栄養因子，神経伝達物質としてはたらく．当研究室では，PACAPの遺伝子欠損マウス（PACAP-/-）を作製し，その行動薬理学研究を実施することで，PACAPの生理機能の理解に貢献してきた．これまでに，PACAP-/-は多動，記憶障害，うつ様行動を示すことなどを報告している．また，当研究室以外の国内外の研究グループから，PACAPが恐怖記憶，摂餌，体温調節，涙液分泌，アルコール依存の形成，痛み，疾病関連行動などに関わることが報告されている．さらに，疫学研究において，大うつ病や心的外傷後ストレス障害（Post-traumatic stress disorder, PTSD），統合失調症，片頭痛など，多くの精神疾患とPACAPの関わりが報告されている．これらの知見は，PACAPが多様な精神疾患・精神症状の様々な段階に関わることを示している．したがって，PACAPシグナルの分子基盤を明らかにし，そのアゴニスト・アンタゴニストの薬理学的な特徴を明らかにすることは精神疾患の理解や新規創薬に貢献する可能性がある．

Ⅰ型PACAP 受容体PAC1はGs・Gqタンパク質に共役し，ERKやCREBシグナルを活性化させることで，細胞の機能調節を行うことが明らかになっている．また，βアレスチンは活性化したGタンパク質共役型受容体(GPCR)とタンパク質間相互作用することにより，Gタンパク質共役シグナルの脱感作，GPCRの細胞内在化に関わること，Gタンパク質共役シグナルとは独立したシグナルパスウェイを持つことが明らかになっている．しかし，PACAP-PAC1シグナルにおいて，βアレスチンを介するシグナルについては詳細な解析が行われておらず，未解明な点が多い．本研究では，βアレスチンのアイソフォームがPACAPによる細胞内シグナル調節に与える影響を，HEK293T細胞を用いて解析した．PAC1はβアレスチン１およびβアレスチン２とタンパク質間相互作用するが，その細胞内の局在は異なっていた．また，βアレスチン１ではなく，βアレスチン２の発現抑制はPACAPによるPAC1の細胞内在化を抑制した．さらに，βアレスチン１の発現抑制はPACAPによるERKのリン酸化を促進した一方で，βアレスチン２の発現抑制はPACAPによるERKのリン酸化を抑制した．これらの結果はβアレスチンのアイソフォームがPACAPによる細胞内シグナルに異なる影響を与えることを示している．今後，PACAP-PAC1シグナルにおけるβアレスチン１およびβアレスチン２シグナル，およびGタンパク質共役シグナルがPACAPの生理機能にどのような影響を与えるのかが詳細に明らかにされることで，本研究の成果がPACAPシグナルの分子機構の理解，ならびにPACAPシグナルに着目した新規創薬に貢献することが期待される．

当研究室におけるこれまでのPACAP-/-の薬理学研究から，PACAP-/-脳では，セロトニン受容体2A（5-HT_{2A}）を介するシグナルが変調している可能性が示唆されている．また，これまでにPACAPがPAC1ならびにβアレスチン2を介して5-HT_{2A}を細胞内在化させることを報告している.これらから，PACAP-PAC1シグナルはβアレスチン2シグナルを駆動することで，5-HT_{2A}のシグナルを抑制的に調節する可能性が示唆される．そこで，行動薬理学的にPACAPが5-HT_{2A}シグナルに与える影響を解析したところ，PACAPが5-HT2A依存的な幻覚様の行動異常を減弱させることを見出した．この結果は，PACAPシグナルを調節することで，5-HT_{2A}アゴニストの有害作用を低減できる可能性を示している．

これまでの研究によってPACAPが精神的ストレスにより惹起される行動異常やホルモン分泌の変調に関わることが示唆されている．最近、我々の共同研究グループである富山大 髙﨑らは低分子性の高親和性のPAC1アンタゴニストをin silico のスクリーニングにより同定した．そこで，本研究では，PAC1アンタゴニストが精神的ストレスにより惹起されるマウスの行動異常に与える影響を行動薬理学的に解析した．PAC1アンタゴニストは単回拘束ストレスにより惹起される不安様行動を減弱させた．またPAC1アンタゴニストの単回投与は繰り返し社会的敗北ストレスマウスのうつ様，不安様行動，認知機能障害を即効性に改善した．PAC1アンタゴニストの単回投与は繰り返し社会的敗北ストレスマウスの社会性障害，ショ糖嗜好性の低下を8週間にわたって改善した．これらの結果は，PAC1アンタゴニストが精神的なストレスを原因とする精神疾患の新しい治療薬選択肢になる可能性を示すものである．

今後, PAC1アンタゴニストの毒性・薬物動態が詳細に明らかにされることで, 同化合物が精神疾患の新しい治療選択肢になることが期待される.

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（　新谷　勇介　）		
	（職）	氏　名
論文審査担当者	主 査　教授 副 査　教授 副 査　教授	橋本　均 藤尾　慈 中川　晋作

論文審査の結果の要旨

下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ポリペプチドpituitary adenylate cyclase-activating polypeptide（PACAP）は中枢および末梢神経系に広く発現する神経ペプチドであり，神経保護因子，神経栄養因子，神経伝達物質として働くことが知られている．新谷が所属する研究室ではこれまでに，PACAPの遺伝子欠損マウス（PACAP-/-）が作製され，その行動薬理学研究によってPACAPの生理機能が解明されてきた．その中で，PACAP-/-は多動，記憶障害，うつ様行動を示すことなども報告されている．また国内外の研究グループから，PACAPが恐怖記憶，摂食，体温調節，涙液分泌，アルコール依存の形成，疼痛などに関わることが報告されている．さらに，疫学研究などによって，大うつ病や心的外傷後ストレス障害，統合失調症，片頭痛など，多くの神経・精神疾患とPACAPの関わりが示されている．以上の背景のもと，本学位論文において新谷は，精神疾患におけるPACAPシグナルの役割の理解と新規創薬に貢献することを目的とし，PACAPシグナル伝達系の分子機構およびPACAP受容体アンタゴニストの薬理学的特性の解明に取り組み，以下の知見を得た．

Ｉ型PACAP 受容体PAC1はGsとGqタンパク質に共役し，ERKやCREBを介するシグナルを活性化させることで，細胞の機能調節を行うことがこれまでの報告で明らかにされている．また，βアレスチンは活性化したGタンパク質共役型受容体(GPCR)とタンパク質間相互作用することにより，Gタンパク質共役シグナルの脱感作，GPCRの細胞内在化に関わること，Gタンパク質共役シグナルとは独立したシグナルパスウェイを持つことが既に報告されている．しかし，PACAP-PAC1シグナルにおいて，βアレスチンを介するシグナルについては詳細な解析が行われておらず，未解明な点が多い．そこで本論文では，βアレスチンのアイソフォームがPACAPによる細胞内シグナル調節に与える影響を，HEK293T細胞を用いて解析された．PAC1はβアレスチン１およびβアレスチン２とタンパク質間相互作用するが，その細胞内の局在は異なっていた．また，βアレスチン２の発現抑制はPACAPによるPAC1の細胞内在化を抑制したが，βアレスチン１の発現抑制ではこの作用は見られなかった．さらに，βアレスチン１の発現抑制はPACAPによるERKのリン酸化を促進した一方で，βアレスチン２の発現抑制はPACAPによるERKのリン酸化を抑制した．これらの結果はβアレスチンのアイソフォームがPACAPによる細胞内シグナルに異なる影響を与えることを示したものである．

次に，新谷の所属研究室におけるこれまでのPACAP-/-の薬理学研究から，PACAP-/-脳では，セロトニン受容体2A（5-HT_{2A}）を介するシグナルが変調している可能性が示唆されてきた．また，これまでにPACAPがPAC1ならびにβアレスチン2を介して5-HT_{2A}を細胞内在化させることも報告されている．これらの結果から，PACAP-PAC1シグナルはβアレスチン2シグナルを駆動することで，5-HT_{2A}のシグナルを抑制的に調節する可能性が示唆される．そこで，本論文では，行動薬理学的にPACAPが5-HT_{2A}シグナルに与える影響を解析し，PACAPが5-HT_{2A}依存的な幻覚様の行動異常を減弱させることを見出した．この結果は，PACAPシグナルを調節することで，5-HT_{2A}アゴニストの有害作用を低減できる可能性を示している．

一方，これまでの研究によってPACAPが精神的ストレスにより惹起される行動異常やホルモン分泌の変調に関わることが示唆されている．最近、新谷が所属する研究室の共同研究グループである富山大の髙﨑らは，in silicoスクリーニングによって，低分子で高親和性のPAC1アンタゴニストを世界で初めて同定することに成功している．そこで，本研究では，PAC1アンタゴニストが精神的ストレスにより惹起されるマウスの行動異常に与える影響を行動薬理学的に解析した．その結果，PAC1アンタゴニストは単回拘束ストレスにより惹起される不安様行動を減弱させること，またPAC1アンタゴニストは単回投与で，繰り返し社会的敗北ストレスマウスのうつ様，不安様行動，認知機能障害を即効性に改善することが示された．さらにPAC1アンタゴニストの単回投与は，繰り返し社会的敗北ストレスマウスの社会性障害，ショ糖嗜好性の低下を8週間にわたって改善することも示された．

以上，本論文は，精神・神経系においてPACAP-PAC1シグナルが担う役割の分子機構の解明に寄与するとともに，PAC1アンタゴニストが精神的なストレスを原因とする精神疾患の新しい治療薬の選択肢になる可能性を示したものであり，博士（薬科学）の学位論文に値するものと認める．