

ニューロペプチド PACAP と精神神経機能：変異マウスからの予想外の知見

脳とこころのメカニズムは、依然多くが未解明であるが、近年著しく進歩した分子生物学的技術の利用など様々な脳科学研究の発展により、精神や神経機能に関わる知見が蓄積されつつある。

このミニレビューでは、ノックアウトマウスの表現型から予想外の機能として見つかった、ニューロペプチド PACAP による精神行動の調節作用について紹介するとともに、関連するいくつかのトピックスについても触れ、PACAP シグナル系による精神・神経機能調節に関する研究の現状をまとめる。

1. PACAP とは

PACAP (pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide ; 下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ポリペプチド) は、米国で実施された新規の向下下垂体ホルモンの探索研究により、ヒツジ視床下部から、1989年宮田らによって単離・同定されたペプチドホルモンであり、38または27アミノ酸残基からなる PACAP38、PACAP27 の二つの活性フォームがある^{1,2)}。PACAP は視床下部だけでなく、様々な脳部位や末梢組織にも存在し、ホルモン様作用に加え、神経伝達物質、神経調節因子あるいは神経栄養因子様の作用など多能性であることを特徴とする。PACAP は、vasoactive intestinal peptide (VIP)、セクレチン、グルカゴンや成長ホルモン放出ホルモン (GHRH) と同じファミリーに属している。他のニューロペプチドと同様に、前駆体ペプチドから限定分解により生成されるが、興味深いことに、鳥類までは、GHRH 様ペプチドも PACAP と同じ前駆体から生成するのに対し、哺乳類では別々の遺伝子によりコードされている。PACAP38 の一次構造は、解析された哺乳類の全種で同じで、下等動物でも非常によく保存されており、生命機能維持における重要な働きが示唆される^{1,2)}。ショウジョウバエの短期記憶に関する行動突然変異体 *amnesiac* は、PACAP および GHRH とある程度ホモロジーのあるペプチドの機能欠損変異体であることも明らかにされている³⁾。

発見以来 18 年間の PACAP 研究は、報告数が 2000 件以上 (最近 5 年間では約 700 報 ; Medline 検索) であり、たいへん盛んである。これは、例えばオピオイド関連受容体

の内因性物質として注目を浴びている nociceptin と、研究期間当たりになるとほぼ匹敵する数である。

橋本は、脳に発現する新しい VIP 受容体ファミリーの探索を長田重一博士 (大阪バイオサイエンス研究所, 現, 大阪大学大学院生命機能研究科) との共同研究で進め、1993 年に PACAP に選択的な細胞膜 7 回貫通・G タンパク質共役型受容体 PAC₁ のクローニングに成功した⁴⁾。先に石原, 長田らがクローニングした VIP 受容体 VPAC₁⁵⁾ と、後にクローニングされた VPAC₂ は、VIP だけでなく PACAP も結合する共通の受容体であるため、PACAP は三つの受容体サブタイプを介してその作用を発揮することが明らかになった¹⁻³⁾。これら受容体の細胞内情報伝達系は、アデニル酸シクラーゼの活性化、ホスファチジルイノシトール (PI) 代謝回転の亢進、Ca²⁺ 動員の活性化などであるが、アデニル酸シクラーゼ活性化以外への共役については、受容体サブタイプや発現する細胞の種類に依存する。

2. PACAP シグナル系の変異マウス

著者らは、PACAP シグナル系の *in vivo* 生理機能の研究を目的として、PAC₁ 受容体欠損マウス、PACAP 欠損マウス、腺臓β細胞特異的 PACAP 過剰発現マウスなどを作製してきた⁶⁻⁸⁾。

欠損マウスのうち、PAC₁ 受容体は私たちの報告が最初であったが、PACAP については、私たちを含め独立に複数の研究グループが作成し、それぞれ異なるポイントからの解析を進めている⁸⁾。

PACAP 欠損マウスはメンデル則の予想比率で誕生するものの、生後早期、とくに 2 週齢で高頻度に死亡する。生存率はマウスの遺伝的背景に依存し、C57BL/6 マウスの場合、報告により数%から数十%まで幅がある。飼育温度が生存率に影響するという報告や、呼吸の調節障害が原因であるという仮説も出されている。PAC₁ 受容体欠損マウスにも同様な早期の高死亡率が報告されている⁸⁾。

以下には、PACAP 欠損マウスの精神行動を含む脳機能に関する解析結果を示す。

3. PACAP 欠損マウスの精神行動変化

① 自発運動および好奇行動の増加

PACAP 欠損マウスは、薬理学的研究等からはあまり予想されていなかった表現型として、数々の著しい精神行動変化を示す^{3,6,8,9)}。新規環境における自発運動量は、恐らく環境馴化に障害があり、初期の高い運動量が持続するために増加している (図 1)。高架式十字迷路など数種の探索

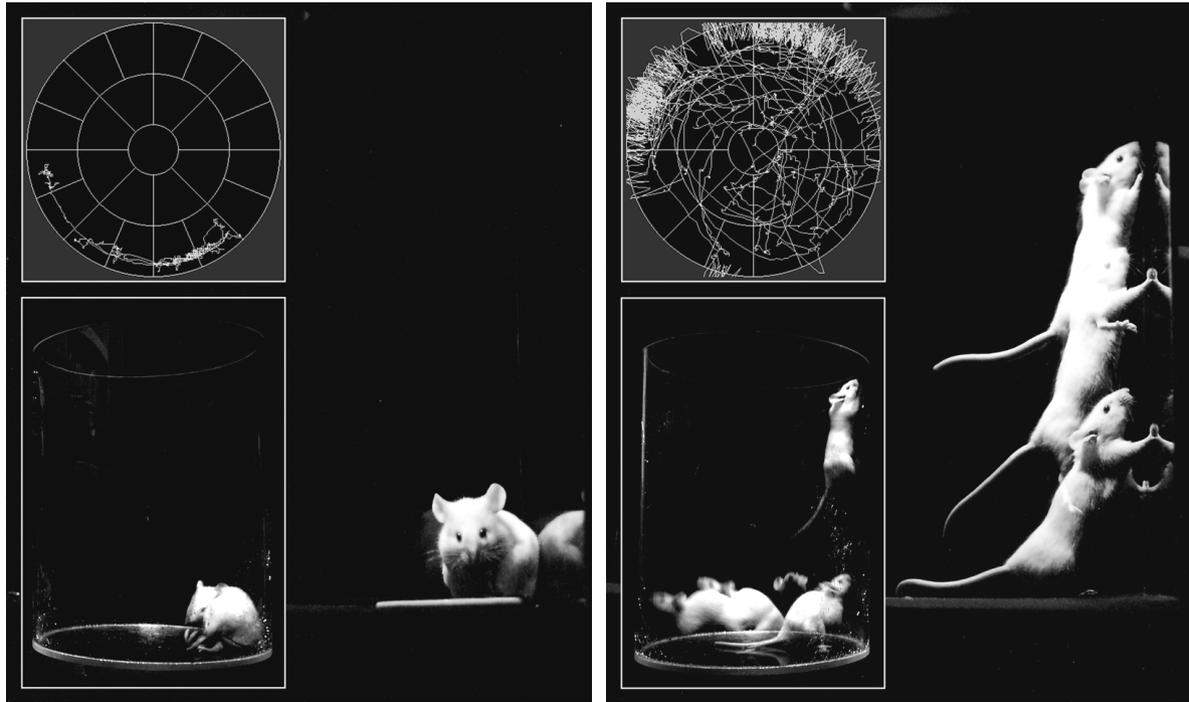


図1 PACAP欠損マウスの多動性および異常ジャンプ行動⁶⁾を示すこま撮り写真
左：野生型マウス，右：PACAP欠損マウス．挿入図上：自発運動パターン⁶⁾の例．60分記録の最後10分間の，典型的な2匹の軌跡を示す．Baba, A., Annual Report of Osaka University, 2001-2002より，許可を得て転載．

行動および不安レベルの評価テストの結果からは，好奇行動が増加あるいは不安レベルが低下している可能性が示されている．また異常なジャンプの繰り返しも観察される(図1)．

② 感覚情報処理機能の障害

驚き反射は防衛反応の一つであるが，例えば大きな音などの刺激に，30～500ミリ秒程度先行して弱い刺激を与えると，大きな音だけの場合に見られる驚愕反応が抑制される，驚き反射の可塑性が知られている．この抑制の割合をprepulse inhibition (PPI) と呼び，脳内の感覚運動ゲーティング機能を反映するものと考えられている¹⁰⁾．

PACAP欠損マウスのPPIレベルは，野生型マウスに比べて，4週齢までは同程度であるが，6週齢以降では有意に低下している⁹⁾．統合失調症を含むいくつかの疾患や障害時にPPIが低下することが報告されており¹⁰⁾，PACAP機能変化とこれらの精神疾患との関連性を示唆する結果と考えられる．

③ アンフェタミンによる逆説的な改善作用

アンフェタミンやそれに類似のメチルフェニデートなどの精神刺激薬は，一般に運動興奮を起こすが，多動性障害

に対しては逆説的に改善効果(多動の抑制)を示すことが知られ，注意欠陥多動性障害(ADHD)の治療に用いられる場合がある．

アンフェタミンは，PACAP欠損マウスの多動性を抑制するとともに，PPI障害も，野生型マウスのレベルにまで改善する⁹⁾．

多動性障害の病因と，精神刺激薬の治療メカニズムの多くは依然不明であり，PACAP欠損マウスがそれらの研究に有用な病態モデルを提供するものと期待される．

④ 神経化学的メカニズム

PACAP欠損マウスの精神神経機能変化のメカニズムとして，いくつかの理由からセロトニン(5-HT)神経系が関与する可能性がある．1) まず欠損マウスの大脳皮質と線条体では，5-HT代謝物量がわずかながら有意に減少している⁹⁾(ただし遺伝的背景に依存する可能性がある)．2) また，プレシナプス5-HT_{1A}自己抑制受容体を介するとされる5-HT_{1A}受容体作動薬による体温下降作用が，このマウスでは著明に減弱している⁹⁾．3) さらに，アンフェタミンによる多動抑制作用は，5-HT_{1A}受容体遮断薬によって阻害されることも明らかになっている⁹⁾．4) 組織学的には，

PACAP やその受容体は脳内に広範囲に存在し、5-HT 神経細胞や投射先の神経核にも発現している²⁾。これらのことから、5-HT シグナル系の何らかの機能変化が、PACAP 欠損マウスの行動変化等の原因である可能性が示唆されるとともに、5-HT_{1A} 受容体シグナル系が、精神刺激薬による運動量調節の方向性と程度を決定する重要な因子である可能性を示すものと考えられる⁹⁾。

4. PAC₁ 受容体欠損マウスの精神行動変化

PAC₁ 受容体欠損マウスについても精神行動変化が報告されている。この変異マウスも PACAP 欠損マウスと同様に、自発運動量の亢進、不安様行動の減少を示す¹¹⁾。さらに、社会的相互作用の著しい異常も示すことから、PAC₁ 受容体シグナル系の機能変化が、自閉症スペクトラム障害のような社会的相互関係の障害を特徴とする精神障害と関連する可能性が示唆されている¹²⁾。

PACAP 欠損マウスが、多動性と精神刺激薬への良好な反応性を示したことを併せると、PACAP-PAC₁ 受容体シグナル系が、自閉症スペクトラムや ADHD 等の発達障害に関連する可能性の検証が今後必要であると思われる。

5. リチウムの治療メカニズムにおける PACAP

アルカリ金属であるリチウムは、気分安定化作用を持ち、双極性障害の治療薬として使用されている。作用機序は十分には解明されていないものの、PI 代謝回転の抑制が関係すると考えられている（イノシトール枯渇仮説）。最近、イノシトールの減少によって、PACAP 遺伝子およびその前駆体ペプチドから成熟型の PACAP に変換する酵素の遺伝子発現が、協調的に促進されることが示された¹³⁾。著者らは、PACAP の機能低下が多動や不安レベルの低下（上述）とともに、体内時計のリズム調節障害¹⁴⁾を引き起こすことも示してきた。概日行動の異常は、双極性障害における病態の一つに考えられている。さらに PACAP 遺伝子は、18 番染色体上の双極性障害との連鎖領域の近くにあることも知られている。これらのことから、リチウムの治療効果メカニズムに、PACAP 発現の増加が関与する可能性が指摘されている¹³⁾。

6. 精神障害“スペクトラム”における PACAP シグナル系の意義

変異マウスの表現型から、PACAP の機能低下が上述の様々な精神行動変化に加え、海馬シナプス伝達の可塑性障害や、記憶の保持機能障害、ストレス応答の減弱等に結び

つくことも明らかになっている⁸⁾（一部未発表データ）。また、橋本亮太博士（国立精神神経センター、現、大阪大学大学院医学系研究科附属子どものこころの分子統御機構研究センター／精神医学教室）らとの共同研究により、PACAP の一塩基多型と統合失調症との関連についても明らかになりつつある。PACAP 欠損マウスの多動、PPI 障害を含む多くの精神行動障害が、統合失調症の症状を広く改善する非定型抗精神病薬によって、ほぼ正常レベルに改善することも明らかになっている（未発表データ）。以上より、PACAP シグナル系は、1) 特定の精神疾患のリスク遺伝子である可能性とともに、2) 精神神経系の基本的な機能維持に関わることから、その何らかの変化が広い精神障害“スペクトラム”に影響する可能性が考えられる。

7. まとめと今後の展望

以上のような研究により、PACAP 欠損マウスが、ヒト精神機能や疾患研究ツールとしての病態モデル動物になる可能性が明らかになった。一方、著者らは伊藤誠二博士（関西医科大学）との共同研究により、PACAP 欠損マウスでは神経因性疼痛や炎症性疼痛が消失していること、その機序としての NMDA 受容体に関連したメカニズムを示している¹⁵⁾。精神行動調節においても、同様なメカニズムの存在が十分に推測される。今後はこのような分子レベルのメカニズム解析を、生理・病態生理の両面で進める必要があると考えられる。また PACAP 欠損マウスを用いたゲノミクス解析により、未知の病態パスウェイに関わる新しい因子を見出している。遺伝精神医学的研究においては、統合失調症リスク遺伝子としての確立や、その他の精神疾患・障害との関連の解析が今後の課題である。本稿で述べた変異マウスの表現型と、それらが関係する可能性があるヒト精神疾患・障害、ならびに *in vitro* 分子・生物学的研究からの知見を図 2 にまとめる。

ニューロペプチドは一般に、共存する低分子神経伝達物質に対して、持続的な調節作用を発揮すると考えられている。PACAP が、5-HT や NMDA シグナルを調節し、こころを制御すること、また PACAP 機能の障害が、両シグナル系に干渉することが病因となる可能性が考えられる。既存治療薬の約半数の標的が、G タンパク質共役型受容体であるが、PACAP 受容体が含まれるクラス B 受容体（セクレチン受容体様）は、クラス A 受容体（ロドプシン様）やクラス C 受容体（代謝型グルタミン酸受容体様）などに比べて、特異的拮抗薬・作用薬の開発が難しく、研究そのものも進んでいない。それだけに、*in vivo* での生理機能

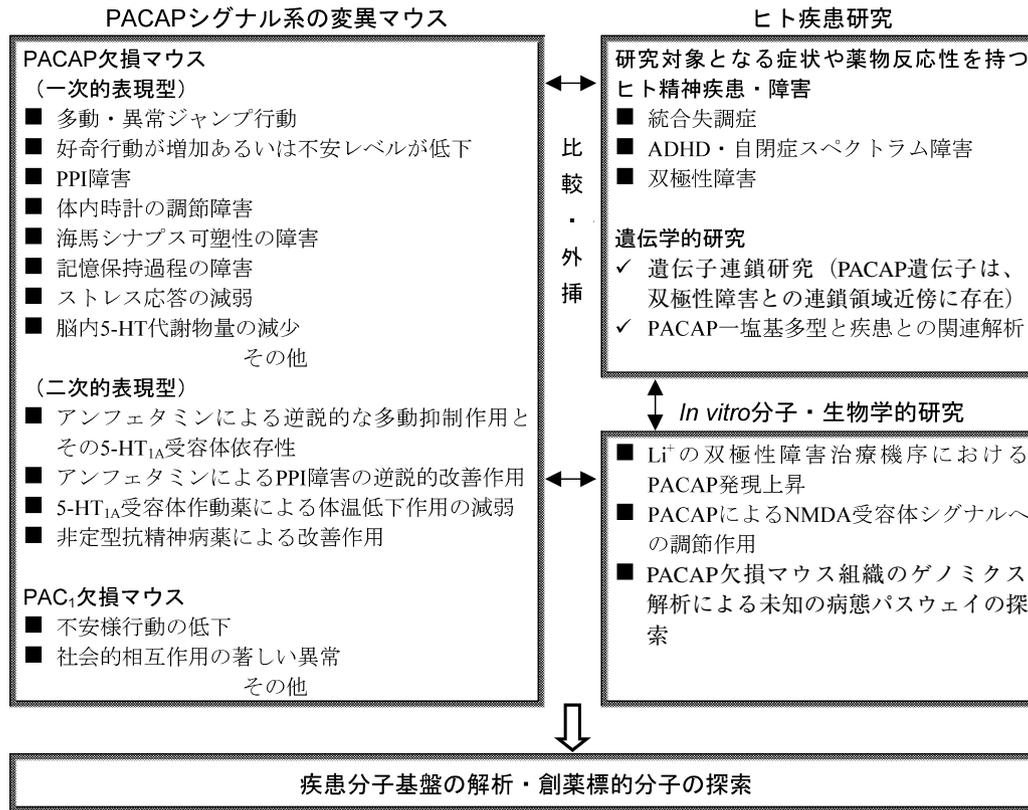


図2 PACAP変異マウスの精神神経機能に関する表現型と、それらが関係する可能性があるヒト精神疾患・障害、ならびに *in vitro* 分子・生物学的研究からの知見

評価やヒトの病態メカニズムなど、創薬標的分子としての可能性を明確にする研究が進めば、新たな治療薬や治療技術が、この受容体ファミリーから生まれる可能性が大きい。PACAP研究についても、今後このような方向に展開することが期待される。

謝辞 本稿中、著者らの研究結果は、大阪大学大学院薬学研究科神経薬理学分野・複合薬物動態学分野の教室メンバーと、他施設の多くの共同研究者とともに実施した研究の成果です。ここに厚くお礼申し上げます。

- 1) Arimura, A. (1998) *Jpn. J. Physiol.*, 48, 301-331.
- 2) Vaudry, D., Gonzalez, B. J., Basille, M., Yon, L., Fournier, A., & Vaudry, H. (2000) *Pharmacol. Rev.*, 52, 269-324.
- 3) Hashimoto, H., Shintani, N., & Baba, A. (2002) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 297, 427-431.
- 4) Hashimoto, H., Ishihara, T., Shigemoto, R., Mori, K., & Nagata, S. (1993) *Neuron*, 11, 333-342.
- 5) Ishihara, T., Shigemoto, R., Mori, K., Takahashi, K., & Nagata, S. (1992) *Neuron*, 8, 811-819.
- 6) Hashimoto, H., Shintani, N., Tanaka, K., Mori, W., Hirose, M.,

- Matsuda, T., Sakaue, M., Miyazaki, J., Niwa, H., Tashiro, F., Yamamoto, K., Koga, K., Tomimoto, S., Kunugi, A., Suetake, S., & Baba, A. (2001) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 98, 13355-13360.
- 7) Yamamoto, K., Hashimoto, H., Tomimoto, S., Shintani, N., Miyazaki, J., Tashiro, F., Aihara, H., Nammo, T., Li, M., Yamagata, K., Miyagawa, J., Matsuzawa, Y., Kawabata, Y., Fukuyama, Y., Koga, K., Mori, W., Tanaka, K., Matsuda, T., & Baba, A. (2003) *Diabetes*, 52, 1155-1162.
- 8) Hashimoto, H., Shintani, N., & Baba, A. (2006) *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1070, 75-89.
- 9) Tanaka, K., Shintani, N., Hashimoto, H., Kawagishi, N., Ago, Y., Matsuda, T., Hashimoto, R., Kunugi, H., Yamamoto, A., Kawaguchi, C., Shimada, T., & Baba, A. (2006) *J. Neurosci.*, 26, 5091-5097.
- 10) Swerdlow, N.R. & Geyer, M.A. (1998) *Schizophr. Bull.*, 24, 285-301.
- 11) Otto, C., Martin, M., Wolfer, D.P., Lipp, H.P., Maldonado, R., & Schutz, G. (2001) *Brain Res. Mol. Brain Res.*, 92, 78-84.
- 12) Nicot, A., Otto, T., Brabet, P., & Diccico-Bloom, E.M. (2004) *J. Neurosci.*, 24, 8786-8795.
- 13) Brandish, P.E., Su, M., Holder, D.J., Hodor, P., Szumiloski, J., Kleinhanz, R.R., Forbes, J.E., McWhorter, M.E., Duenwald, S. J., Parrish, M.L., Na, S., Liu, Y., Phillips, R.L., Renger, J.J., Sankaranarayanan, S., Simon, A.J., & Scolnick, E.M. (2005)

Neuron, 45, 861-872.

- 14) Kawaguchi, C., Tanaka, K., Isojima, Y., Shintani, N., Hashimoto, H., Baba, A., & Nagai, K. (2003) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 310, 169-175.
- 15) Mabuchi, T., Shintani, N., Matsumura, S., Okuda-Ashitaka, E., Hashimoto, H., Muratani, T., Minami, T., Baba, A., & Ito, S. (2004) *J. Neurosci.*, 24, 7283-7291.

橋本 均^{1,2}, 新谷 紀人¹, 馬場 明道¹
(大阪大学大学院 ¹薬学研究科神経薬理学分野;
²医学系研究科附属
子どものこころの分子統御機構研究センター)

The neuropeptide PACAP and neuropsychological function:
unexpected insights from mouse mutants

Hitoshi Hashimoto^{1,2}, Norihito Shintani¹, and Akemichi
Baba¹ (¹Laboratory of Molecular Neuropharmacology,
Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Osaka Univer-
sity, 1-6 Yamada-oka, Suita, Osaka 565-0871, Japan; ²Center
for Child Mental Development, Graduate School of
Medicine, Osaka University, 2-2 Yamada-oka, Suita, Osaka
565-0871, Japan)