

食品成分による依存症抑制作用メカニズムの検討

杏林大学医学部 病態生理学教室

なかやま たかひろ

中山 高宏

食品成分による依存症抑制作用メカニズムの検討

杏林大学医学部 病態生理学教室 中山 高宏

(〒181-8611 東京都三鷹市新川 6-20-2 電話番号:0422-47-5511)

要旨

我が国において多くの罹患者を抱える依存症は、中脳報酬系のドーパミン神経亢進によって引き起こされ、その機能障害により症状が緩和されることが知られている。我々はこれまでに、神経モノアミン伝達に関わる syntaxin 1A (*stx1A*) 遺伝子の発現量低下が、中脳ドーパミン分泌抑制を引き起こすと共に、その発現はヒストンアセチル化酵素 KAT3 により神経特異的に促進性の発現制御がなされていることを発見してきた。そこで本研究では、脳における *stx1A* の高発現を決定している KAT3 の阻害剤に着目し、脳内 *stx1A* 発現抑制によるドーパミン分泌低下と依存症状の改善効果の関連を検証することを目的とした研究を行った。その結果、KAT3 阻害剤クルクミンをアルコール依存マウスに投与したところ、脳内 *stx1A* 発現量及びドーパミン合成・分泌量が減少し、アルコール嗜好性が有意に低下する現象を発見した。更に *stx1A* ノックアウトによりアルコール・ニコチン依存の症状を示し難くなる現象を見い出してきた。これらの結果は、KAT3 阻害剤による脳内 *stx1A* 発現量の低下が、中脳ドーパミン分泌量の低下と共に依存症状の回復をもたらしていることを示しており、依存症に対する新たな治療法確立への道が拓かれる可能性が示唆された。

1. 調査研究目的

我が国において多くの罹患者を抱える、アルコール・ニコチン・ギャンブル・薬物等による依存症は、中脳辺縁ドーパミン神経の報酬系亢進によって引き起こされ、ドーパミン機能の阻害により症状が緩和されることが知られている¹⁾。これら依存症の薬物療法として現在までに認可されている治療薬は病原部位である報酬系を標的としておらず、必ずしも十分な治療効果が得られていないことから、報酬系への直接的な作用機序を有する代替療法の開発が望まれている現状にある。我々はこれまでに、神経モノアミン伝達に関わる *syntaxin1A* (*stx1A*) 遺伝子の発現量低下が、中脳辺縁系におけるドーパミン分泌抑制を引き起こす²⁾と共に、その発現は神経細胞における KAT3 ヒストンアセチル化酵素による促進によって神経細胞・組織特異的に発現制御されていることを発見してきた^{3, 4)}。興味深いことに、ドーパミン合成の律速酵素であるチロシン水酸化酵素(TH)も *stx1A* と同じく KAT3 による促進性の制御を受けていることが知られている⁵⁾。従って本計画では、中脳辺縁神経細胞において *stx1A*, TH 遺伝子の発現誘導を決定している KAT3 の阻害剤であり香辛料の有効成分として知られるクルクミンに着目し、マウス生体内投与により脳内 *stx1A*, TH 発現量を抑制可能であることを明らかにし、ドーパミン合成・分泌阻害によるアルコール・ニコチン依存症状に対する抑制効果を検証することを目的とした研究を行った。

2. 調査研究方法

(2-1) KAT3 阻害剤による脳内 *stx1A* 機能の抑制効果の検証

KAT3 阻害剤であるクルクミンの生物学的利用能と BBB 透過性を向上させた配糖体を合成し、野生型マウスへの投与により、神経細胞内の *stx1A* 発現量と脳内ドーパミン合成・分泌機能が低下するか否かの検証を行った。投与法はマウスに対して1週間の慢性腹腔内投与を行い、脳における *stx1A* 発現量の低下と ECD 液体クロマトグラフィ解析による脳内ドーパミン濃度

と分泌後代謝物 HVA との比率を求めることによるドーパミン合成・分泌機能の低下を指標に投与計画を決定した⁶⁾。

(2-2) 依存症に対する KAT3 阻害剤の効果の検証

まず8-12週齢の野生型マウスをアルコール自由飲水条件下にて依存状態に陥らせたモデルマウスを作製した。これらをコントロール群と薬剤投与群の2群に分け、1週間のKAT阻害剤の腹腔内投与を行った時のアルコール消費量変化から嗜好性の低下を算出した¹⁾。またニコチン依存に対する効果を検証する為、1 mg/kg ニコチンによる場所嗜好性(CPP)試験を行い、ニコチン嗜好性に及ぼす効果を算出した⁷⁾。ノックアウトマウスを用いた解析では、8週齢の野生型マウスとの比較のもと、アルコール・ニコチン依存に対する嗜好性の比較を行い、*stx1A*の依存症に対する効果を検証した。

3. 調査研究結果および考察

その結果、KAT3阻害剤であるクルクミン配糖体を野生型マウスに対して1週間の慢性腹腔内投与を行ったところ、脳内における*stx1A*タンパク質発現量が低下することを見出した。次に、効果が認められた1週間のクルクミン配糖体の投与により*stx1A*の神経機能である中脳ドーパミン分泌機能の変化を調べるためにECD-HPLC解析を行ったところ、ドーパミン分泌量と共にドーパミン合成量が顕著に低下していることが明らかになった(Figure 1)。この結果はクルクミン配糖体投与による*stx1A*発現量の低下により、その神経機能である伝達物質の開口放出機能が抑制されたことを意味しており、ドーパミン合成量の低下はカテコルアミン合成の律速酵素であるチロシン水酸化酵素(TH)の発現抑制によりもたらされた効果であることが示唆された⁵⁾。そこで、アルコール自由飲水条件下にてアルコール依存に陥らせた依存症モデルマウスを作製し、クルク

ミン配糖体を投与したところ、アルコール消費量が有意に低下する現象を見い出してきた(Figure 2)。この結果を受けて、クルクミン配糖体と同様に KAT3 の阻害剤であるアナカルジン酸配糖体についても同様の解析を行ったところ、*stx1A* の抑制効果を通じたアルコール依存症状に対する抑制効果が存在することが示された(Figure 3)。その一方で、KAT3 と同様にヒストンアセチル化酵素として知られている KAT2 に対する阻害剤であるギンコール酸を依存症モデルマウスに投与したところ、アルコール消費量に有意な変化を示さなかった(Figure 4)。これらの結果から、クルクミンによるアルコール依存に対する抑制効果はヒストンアセチル化酵素 KAT3 を介した効果である可能性が示唆された。更に我々は、*stx1A* ノックアウトマウスを用いて、アルコール依存症ならびにニコチン依存症に対する効果を検討した。その結果、*stx1A* ノックアウトによりいずれの依存症においても症状を示し難くなる現象を見い出してきた(Figure 5)。

4. まとめ

我々によるこれらの結果は、中脳ドーパミン小胞分泌機能において中心的な働きを担っている *stx1A* 遺伝子が、アルコールやニコチンによる依存症の発症において重要な役割を果たしていることを示唆しており、KAT3 阻害剤による中脳 STX1A, TH 発現抑制を介したドーパミン合成・分泌量の低下が、アルコール依存ならびにニコチン依存症状の緩和に効果的であることを示している。今後の展開として、発症機序を同じくする薬物・ギャンブル依存症における効果も検証してゆく予定であり、目下これら実験の為の準備を行っているところである。

5. 謝辞

本研究を遂行するにあたり、研究助成を賜りました一般用医薬品セルフメディケーション振興財団ならびに関係者の皆様に心より御礼を申し上げます。

6. 調査研究発表

中山高宏、高井信行、藤本隆史、藤原智徳、Sarmistha H Sinha, Tapas K. Kundu, 寺尾安生、赤川公朗「Identification of neural specific expression regulatory factor of syntaxin 1A gene and development of promotion control method in vivo.」第92回日本生化学会学術集会 横浜

本研究内容について国際投稿論文の投稿準備中である。

7. 引用文献

1. El-Ghundi, M., George, S. R., Drago, J., Fletcher, P. J., Fan, T., Nguyen, T., Liu, C., Sibley, D. R., Westphal, H., and O'Dowd, B. F.: Disruption of dopamine D1 receptor gene expression attenuates alcohol-seeking behavior: *Eur J Pharmacol.* 353: 149-158, 1998
2. Mishima, T., Fujiwara, T., Kofuji, T., and Akagawa, K.: Impairment of catecholamine systems during induction of long-term potentiation at hippocampal CA1 synapses in HPC-1/syntaxin 1A knock-out mice: *J Neurosci.* 32: 381-389, 2012
3. Nakayama, T., Mikoshiba, K., and Akagawa, K.: The cell- and tissue-specific

transcription mechanism of the TATA-less syntaxin 1A gene: *FASEB J.* 30: 525-543, 2016

4. Nakayama, T., and Akagawa, K.: Transcription regulation mechanism of the syntaxin 1A gene via protein kinase A: *Biochem J.* 474: 2465-2473, 2017
5. Lim, J., Yang, C., Hong, S. J., and Kim, K. S.: Regulation of tyrosine hydroxylase gene transcription by the cAMP-signaling pathway: involvement of multiple transcription factors: *Mol Cell Biochem.* 212: 51-60, 2000
6. Fujiwara, T., Kofuji, T., and Akagawa, K.: Dysfunction of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in STX1A knockout mice: *J Neuroendocrinol.* 23: 1222-1230, 2011
7. Harenza, J. L., Muldoon, P. P., De Biasi, M., Damaj, M. I., and Miles, M. F.: Genetic variation within the *Chrna7* gene modulates nicotine reward-like phenotypes in mice: *Genes Brain Behav.* 13: 213-225, 2014

図表

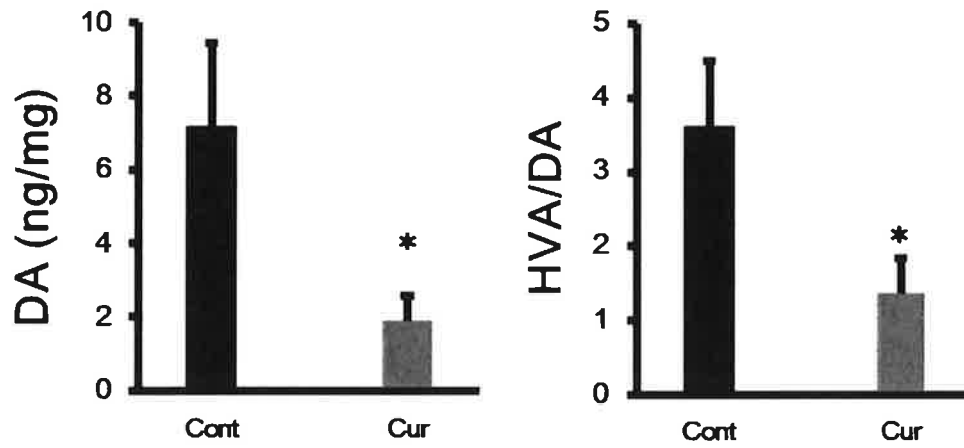


Figure 1. クルクミン配糖体の投与によるドーパミン代謝の変化

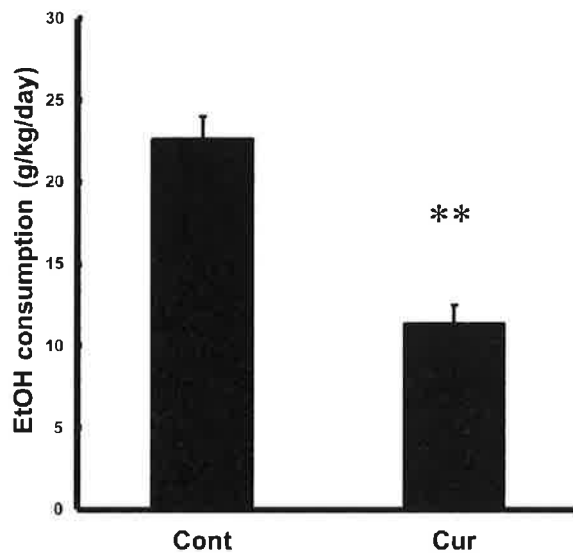


Figure 2. クルクミン配糖体の投与によるアルコール消費量の変化

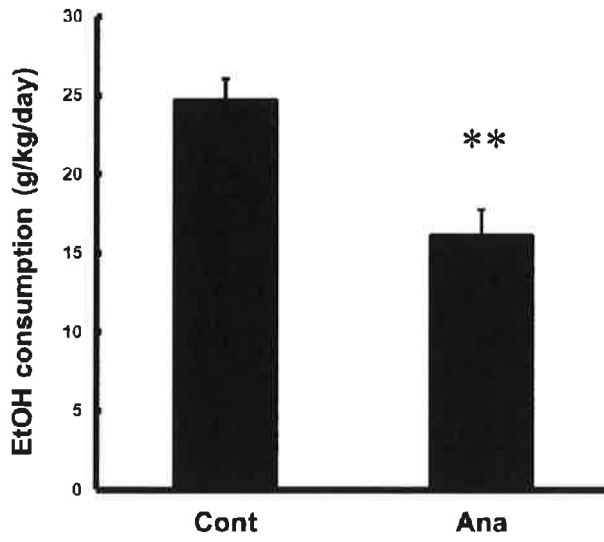


Figure 3. アナカルディン酸配糖体の投与によるアルコール消費量の変化

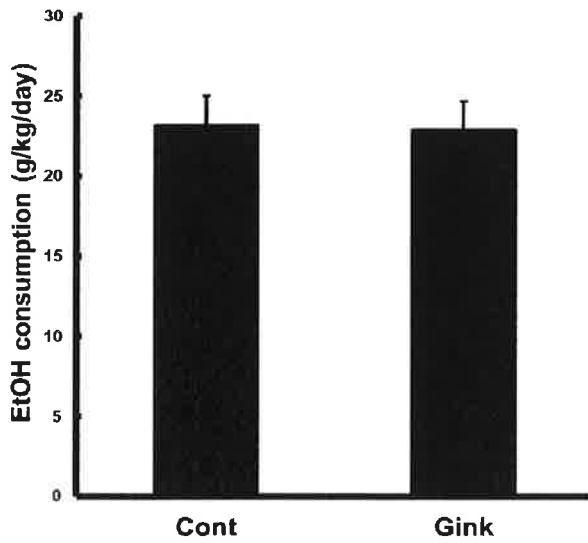


Figure 4. ギンコール酸の投与によるアルコール消費量の変化

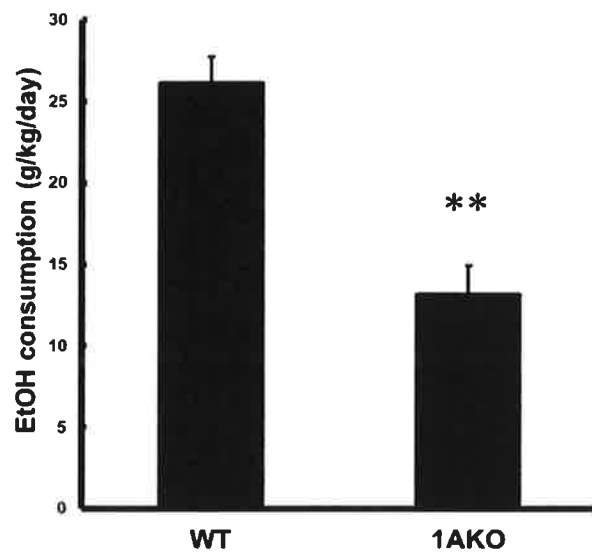


Figure 5. *Stx1a* ノックダウンによるアルコール消費量の変化