

## 論文内容要旨

Allosteric inhibition of phosphodiesterase 4D induces  
biphasic memory-enhancing effects associated with  
learning-activated signaling pathways

(ホスホジエステラーゼ4Dのアロステリック阻害は  
学習によって活性化されるシグナル経路と関連した  
二相性の記憶亢進作用を示す)

Psychopharmacology, in press.

主指導教員：吾郷 由希夫教授  
(医系科学研究科 細胞分子薬理学)

副指導教員：杉田 誠教授  
(医系科学研究科 口腔生理学)

副指導教員：森岡 徳光教授  
(医系科学研究科 薬効解析科学)

神尾 航平

(医系科学研究科 総合健康科学専攻)

本論文では、phosphodiesterase 4D negative allosteric modulator (PDE4D NAM)が有する認知機能、特に記憶に対する作用と cAMP (環状アデノシンリン酸)シグナル経路の活性化との関係性を明らかにすることを目的に研究を行った。

記憶は生活の質や仕事の生産性を維持するために重要な機能であり、加齢や神経変性疾患、精神疾患、近年では感染症などのさまざまな要因や状態によって影響を受けることが明らかになってきた。特に、認知症患者は記憶障害による生活への負担が大きいと考えられている。世界保健機関の報告によると、2023年現在、5500万人以上が認知症を患っており、この数は今後さらに増加すると予測されていることから、記憶障害を改善する新しい薬剤への期待が高まっている。近年、アルツハイマー型認知症に対するアミロイドβを標的とした抗体医薬が承認されたが、認知症の原因は多岐に渡っており、様々な分野、領域からの治療・研究アプローチが必要である。例えば、歯周病の代表的な原因菌である *P. gingivalis* とアルツハイマー型認知症の関連が複数報告されており、歯科領域においても認知・記憶能の改善に繋がる研究が重要視されている。

cAMP シグナル経路は、転写やタンパク質リン酸化の促進により、神経可塑性と記憶過程に重要な役割を担っている。加齢やアルツハイマー病などの神経変性疾患では、脳の海馬や大脳皮質領域の cAMP 代謝が低下していることが知られており、cAMP シグナルを増強することが、記憶障害を改善するための有望な治療ストラテジーの一つであると考えられている。PDE4 阻害薬であるロリプラムは、cAMP 経路の活性化により、複数の動物モデルで認知機能障害改善効果を示すことが報告されているが、臨床において吐き気などの副作用があり、安全に使用できる投与量に制限がある。一方、PDE4 のサブファミリーのうち、PDE4D に選択的に作用する PDE4D NAM は、非臨床試験においてロリプラムと同様に記憶能を向上させる効果を有しながら、嘔吐の出現が少ないことが報告されている。また、臨床において、PDE4D NAM の一つである BPN14770 は脆弱 X 症候群患者の認知機能障害を改善する可能性を示した。しかし、実際に PDE4D NAM の cAMP 代謝に対する作用と認知機能、悪心・嘔吐との関係についての詳細は不明である。

そこで本研究では、PDE4D NAM の一つである D159687 を用いて、記憶、嘔気に対する PDE4D NAM の作用をマウスでの行動薬理的試験により検討し、記憶との関連が知られる海馬 CA1 領域における cAMP シグナル経路に対する作用を解析した。まず初めに、記憶能を評価する恐怖条件付け学習試験を用いて D159687 の影響を評価した。D159687 は 3 mg/kg の用量で文脈記憶の亢進作用を示したが、より低用量の 3 mg/kg、高用量の 30 mg/kg では、文脈記憶に対する作用はみられなかった。この二相性の効果は、ムスカリン受容体アンタゴニストであるスコポラミン誘発の健忘モデル試験においても認められた。すなわち、空間的作業記憶を評価する Y 字迷路試験を実施したところ、D159687 は 3 mg/kg ならびに 30 mg/kg で記憶障害抑制作用を示したが、高用量の 30 mg/kg の効果は 3 mg/kg よりも有意に減弱していた。次に、D159687 がもつ副作用の吐き気に対する作用について検討した。マウスは嘔吐反射が起こらないため、薬物誘起性嘔吐スクリーニンモデルとして用いられる ketamine/xylazine 誘発の麻酔時間に対する作用を解析したところ、高用量の 30 mg/kg の D159687 を投与した場合にのみ麻酔

時間の短縮が起こった。以上の結果から、PDE4D NAM は、適切な用量を設定することで吐き気などの副作用を引き起こすことなく、記憶能を向上させる可能性が示された。

cAMP シグナル経路の活性化と恐怖条件付け学習における記憶亢進作用との関係を検証するため、海馬 CA1 における cAMP 濃度変化について検討した。その結果、行動試験にて薬効を示した 3 mg/kg の D159687 は、ホームケージ内でマウスに投与した際には cAMP 濃度の変動はみられなかったが、条件付けによる学習刺激と併用することで cAMP 濃度の増加が認められた。一方、高用量の 30 mg/kg は、ホームケージ、学習刺激時共に、海馬 CA1 における cAMP 濃度増加させた。また、記憶との関連が報告されている最初期遺伝子 *Fos* の発現に与える D159687 の影響について検討した。*Fos* の発現は、学習刺激、文脈刺激提示の 30 分後に増加したが、高用量(30 mg/kg)および低用量(3 mg/kg)の D159687 はともに、学習誘導性の *Fos* の発現を有意に増加させた。以上の結果から、D159687 は学習依存的に変化するシグナルに影響を与えることが示唆された。しかし、cAMP 濃度、*Fos* 発現はともに、D159687 の用量依存的に増加がみられ、二相性を示す記憶亢進作用との相関がみられなかった。そこで、cAMP/PKA 経路の下流に位置し、記憶形成に重要な役割を担う CREB、SNAP および NR2A タンパク質のリン酸化について検討した。その結果、3 mg/kg の D159687 は学習刺激後の CREB、SNAP、NR2A のリン酸化を増加させたが、30 mg/kg では変化はみられなかった。

以上の結果から、PDE4D NAM による cAMP 濃度の学習依存性な調節が記憶亢進作用に重要であること、また CREB、SNAP、NR2A のリン酸化といったシグナル経路の活性化と関連していることが明らかになった。本研究から、PDE4D NAM の投与量を学習時にのみ cAMP 濃度が増加する用量域に設定することができれば、副作用の発現を抑えながら、記憶能を向上させる有効な治療法の確立につながる可能性が示された。