

令和元年5月17日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15H04275

研究課題名(和文) 認知行動と精神神経疾患病態における大脳基底核神経回路機構とその破綻

研究課題名(英文) Basal ganglia circuit mechanisms in cognitive behavior and neuropsychiatric pathology

研究代表者

疋田 貴俊 (HIKIDA, Takatoshi)

大阪大学・たんぱく質研究所・教授

研究者番号：70421378

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,800,000円

研究成果の概要(和文)：認知学習における大脳基底核神経回路機構を解析し、忌避学習における経路特異的な細胞内シグナリングを明らかにした。さらに、報酬学習の柔軟性において、間接路神経伝達とドーパミンD2L受容体の関与を示した。次に、精神疾患モデルマウスとして、変異型DISC1トランスジェニックマウスを用いて、報酬場所学習課題を行い、社会的孤立ストレスを加えた変異型DISC1トランスジェニックマウスで報酬学習に障害を認めた。海馬CA1場所細胞の神経活動を電気生理学的に調べたところ、報酬関連活動が消失していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

多くの精神神経疾患には認知行動障害が基礎症状として存在するが、その神経基盤は解明されていない。本研究では、認知学習における大脳基底核神経回路機構を解析し、報酬・忌避学習の神経基盤を明らかにした。また、精神疾患モデルマウスの報酬学習異常とその神経基盤を見出した。これらの研究成果は、精神神経疾患の病態を神経回路という新しい視点から解明するもので、新しい治療法開発につながる事が期待できる。

研究成果の概要(英文)：We have analyzed the basal ganglia network mechanisms in cognitive learning. We found the pathway-specific intracellular signaling in aversive learning. Furthermore, we revealed the involvement of the indirect pathways and dopamine D2L receptors in flexibility of reward learning. Next, we examined reward place learning of mutant DISC1 transgenic mice as a mouse model of mental disorders. We have found the impairment in reward place learning of mutant DISC1 transgenic mice with social isolation stress. Reward-related neural activity was disappeared in hippocampal CA1 place cells of mutant DISC1 mice.

研究分野：神経科学、精神医学

キーワード：大脳基底核 報酬学習 忌避学習 ドーパミン 神経回路 精神疾患 海馬

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

大脳基底核は運動のバランスの制御部位であるのみならず、好ましいものを求める報酬行動、不快なものを避ける忌避行動、報酬か忌避かを選択する意思決定を支配する必須の脳部位である。大脳基底核の神経回路網は大脳皮質-線条体(線条体前部の側坐核)-黒質網様部-視床の神経経路で形成され、さらに海馬体や扁桃体から記憶や情動の情報入力を受ける。大脳基底核は黒質緻密部及び腹側被蓋野からのドーパミンによって制御を受け、パーキンソン病はドーパミンの枯渇によって、また薬物依存症はドーパミンの異常亢進によって誘発され、精神神経疾患を理解する上でも重要な脳部位である。大脳基底核の主要な神経回路である線条体から黒質への投射は、直接路と間接路の2つの伝達経路からなる。研究代表者はこれまでに、大脳基底核神経回路の直接路と間接路のそれぞれに特異的な可逆的神経伝達阻止法(Reversible Neurotransmission Blocking; RNB法)を開発し、直接路は報酬行動及び薬物依存(報酬行動の病的状態と言える)を支配する伝達経路であり、一方間接路は忌避行動及び行動柔軟性を支配する伝達経路である事を明らかにした。ここで報酬・忌避学習や行動柔軟性は、認知行動や意思決定行動に重要な役割を担うことから、認知行動や意思決定行動において大脳基底核神経回路の直接路と間接路がそれぞれの役割を有していることが考えられる。

2. 研究の目的

多くの精神神経疾患には認知行動障害が基礎症状として存在するが、その神経基盤は解明されていない。申請者はこれまでに可逆的神経伝達阻止法などの新規に開発した神経回路制御法を用いて、報酬・忌避に基づく意思決定行動や薬物依存症などの精神障害の病態に關与する大脳基底核神経回路機構を同定してきた。そこで精神神経疾患の認知行動障害の神経基盤は神経回路制御異常であるとの仮説のもと、精神神経疾患モデルマウスの認知行動障害を分類し、その認知行動の神経回路制御機構を同定することで、認知行動障害の背景にある神経回路制御異常を明らかにしたい。本研究によって、精神神経疾患の病態を神経回路という新しい視点から解明することで、精神神経疾患の治療法開発につなげる。

3. 研究の方法

(1) 全ての動物実験は京都大学大学院医学研究科の動物実験に関する指針に従った。サブスタンスP遺伝子あるいはエンケファリン遺伝子上流域のプロモーター約2 kbpと、テトラサイクリン依存性転写因子を持つアデノ随伴ウイルス(AAV)を文献 に従い定量的にTNトランスジェニックマウスとその同胞野生型マウスの側坐核に投与を行った。

(2) 行動解析はAAV投与およびカニューラ設置手術の2-3週間後から開始した。抑制性回避試験は文献 に従った。インテリケージを用いた集団飼育下での場所学習課題は文献 に従った。タッチスクリーン学習装置による図形識別課題は文献 に従った。

(3) 精神疾患モデルマウスとして、プリオンプロモーターの下流に変異型DISC1遺伝子を導入したトランスジェニックマウスとその同胞野生型マウスを用い、生後5-8週齢に孤立飼育を行った(文献)。8週齢に元の体重の80%になるまで食餌制限を行い、その後報酬として20mgのペレットを求める場所学習試験を行った。場所学習試験と神経活動記録は文献 に従った。

4. 研究成果

(1) 可逆的神経伝達阻止法を用いた大脳基底核神経回路制御機構の解析

大脳基底核は左右両側半球の回路の障害によって初めて機能を喪失し、かつ同側の脳部位からの情報のみが入力として働く。大脳基底核のこの特徴を生かし、一側半球の側坐核の直接路あるいは間接路をRNB法で遮断した後、さらに他側半球の側坐核に種々のアゴニストあるいはアンタゴニストを注入し、報酬・忌避行動と意志決定における直接路と間接路の役割と神経回路間の結合様式および伝達制御機構を明らかにする新規神経回路制御機構解析法を開発した(asymmetric RNB; aRNB法)。

直接路の中型有棘細胞にはサブスタンスPが、間接路の中型有棘細胞にはエンケファリンがそれぞれ特異的に発現する(文献)。それぞれの遺伝子上流域のプロモーター約2 kbpと、テトラサイクリン依存性転写因子を導入した遺伝子組み換えAAVを、tetracycline-responsive elementの下流にCMVをプロモーターとしてGFPと破傷風菌毒素の融合タンパクを発現させる遺伝子を持つTNトランスジェニックマウスの側坐核に打ち込むことによって、直接路神経細胞あるいは間接路神経細胞に特異的にかつ可逆的に破傷風菌毒素を発現させた(文献)。破傷風菌毒素はシナプス小胞を介した神経伝達を遮断する。この直接路あるいは間接路に特異的な可逆的神経伝達阻止法(RNB)を片側側坐核に適応し(D-aRNBあるいはI-aRNB)、反対側の側坐核に神経伝達物質受容体のアゴニストあるいはアンタゴニストを投与した後の行動を観察した(文献)。これまでに、直接路遮断(D-aRNB)とD1アンタゴニストSCH23390の組み合わせで特異的にコカインおよびチョコレートによる条件付け場所嗜好性獲得の障害を、間接路遮断(I-aRNB)とD2アゴニスト(quinpiroleあるいはaripiprazole)の組み合わせで特異的に忌避行動の障害を観察している(文献)。これらの結果は、薬物依存形成および報酬行動には直接路におけるD1受容体の活性化が、忌避行動には間接路におけるD2受容体の不活性化がそれぞれ必須であ

ることを示している。

D2 受容体の下流では Protein kinase A (PKA)/cAMP シグナルが働いている。そこで、片側間接路遮断マウス 1-aRNb の反対側側坐核に、PKA 阻害薬 (PKI あるいは Rp-cAMPS) を投与したところ、忌避行動が抑制された。また、直接路細胞と間接路細胞のそれぞれに特異的に PKA バイオセンサー蛋白を発現させたマウスの側坐核にイメージファイバーを留置し、PKA バイオセンサー蛋白の蛍光共鳴エネルギー移動 (Fluorescence resonance energy transfer: FRET) を観察することによって、忌避行動時に間接路細胞特異的に PKA 活性化が起こっていることを示した (文献)

(2) 認知学習行動とその柔軟性における大脳基底核神経回路機構の解析

インテリケージを用いた集団飼育下での場所学習課題を行ったところ、間接路遮断マウスで、逆転課題時に前課題の正解への固執が見られた。この課題において行動柔軟性には側坐核の間接路が関与していることが示された (文献)。次に、間接路遮断マウスでみられた行動柔軟性の障害にドーパミン D2 受容体が関与しているかを、間接路ポストシナプスに存在する D2L 受容体 (D2 受容体の long isoform) の欠損マウス (D2L ノックアウトマウス) (文献) を用いて調べた。D2L ノックアウトマウスも、インテリケージにおける場所識別学習の逆転課題において固執エラーの増加と学習遅延がみられた (文献)。さらにタッチスクリーン認知学習装置を用いた図形識別課題と逆転課題においても D2L ノックアウトマウスは成績低下と学習遅延を示した (文献)。これらから、認知学習行動とその柔軟性に間接路 D2 受容体が重要であることが明らかになった。

(3) 精神疾患モデルマウスの認知行動障害と神経活動の異常

精神疾患モデルマウスとして、思春期に社会的孤立ストレスを加えたヒト変異型 DISC1 トランスジェニックマウス (文献) の認知行動障害を調べたところ、報酬場所学習に障害がみられた。そこで、海馬 CA1 にある場所細胞の神経活動を電気生理学的に調べたところ、場所細胞の特性は変化がなかったが、野生型マウスでみられる報酬に関連した神経活動が、変異型マウスでは消失していた。

(4) 得られた成果の国内外における位置づけとインパクト

本研究で得られた成果は PNAS 誌、Learning & Memory 誌、Molecular Neuropsychiatry 誌、Neuroscience Research 誌などの国際ジャーナルに受理された。また、国際学会、国内学会で発表を行った。また本成果に対して日本生物学的精神医学会若手研究者育成プログラム最優秀奨励賞および日本神経精神薬理学会学術奨励賞を受賞した。国内外のジャーナルに依頼され総説執筆を行った。

(5) 考察と今後の展望

認知行動や報酬学習の柔軟性に関わる大脳基底核神経回路機構が明らかとなった。一方、変異型 DISC1 マウスの解析では、海馬場所細胞の報酬関連活動の消失を見いだしたが、大脳基底核神経回路との関連は分かっていない。今後、精神神経疾患病態にこれらの大脳基底核神経回路機構がどのように関与していくかを引き続き解析していく。

< 引用文献 >

- Hikida T et al., Distinct roles of synaptic transmission in direct and indirect striatal pathways to reward and aversive behavior, *Neuron*, Vol. 66, 2010, 896-907
- Endo T et al., Automated test of behavioral flexibility in mice using a behavioral sequencing task in IntelliCage, *Behav Brain Res*, Vol. 221, 2011, 172-181
- Morita M et al., Dopamine D2L receptor is required for visual discrimination and reversal learning, *Mol Neuropsychiatry*, Vol.2, 2017, 124-132
- Niwa M et al, Adolescent stress-induced epigenetic control of dopaminergic neurons via glucocorticoids, *Science*, Vol.339, 2013, 335-339
- Hayashi Y, Sawa A, Hikida T, Impaired hippocampal activity at the goal zone on the place preference task in a DISC1 mouse model, *Neurosci Res*, Vol.106, 2016, 70-73
- Kaneko S et al., Synaptic integration mediated by striatal cholinergic interneurons in basal ganglia function, *Science*, Vol. 289, 2000, 633-637
- Hikida T et al., Pathway-specific modulation of nucleus accumbens in reward and aversive behavior, *Proc Natl Acad Sci USA*, Vol. 110, 2013, 342-347
- Yamaguchi T et al., Role of PKA signaling in D2 receptor-expressing neurons in the core of the nucleus accumbens in aversive learning, *Proc Natl Acad Sci U S A*, Vol.112, 2015, 11383-11388
- Macpherson T et al., Nucleus accumbens dopamine D2-receptor expressing neurons control behavioral flexibility in a place discrimination task in the IntelliCage, *Learn Mem*, Vol.23, 2016, 359-364
- Wang Y et al., Dopamine D2 long receptor-deficient mice display alterations in

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 25 件)

- (1) Kozuka T, Omori Y, Watanabe S, Tarusawa E, Yamamoto H, Chaya T, Furuhashi M, Morita M, Sato T, Hirose S, Ohkawa Y, Yoshimura Y, Hikida T, Furukawa T. miR-124 dosage regulates prefrontal cortex function by dopaminergic modulation. *Sci Rep*, 査読有、9: 3445、2019、DOI: 10.1038/s41598-019-38910-2
- (2) Sumitomo A, Yukitake H, Hirai K, Horike K, Ueta K, Chung Y, Warabi R, Yanagawa T, Kitaoka S, Furuyashiki T, Narumiya S, Hirano T, Niwa M, Sibille E, Hikida T, Sakurai T, Ishizuka K, Sawa A, Tomoda T. Ulk2 controls cortical excitatory-inhibitory balance via autophagic regulation of p62 and GABAA receptor trafficking in pyramidal neurons. *Hum Mol Genet*, 査読有、27(18): 3165-3176、2018、DOI: 10.1093/hmg/ddy219
- (3) Sumitomo A, Saka A, Ueta K, Horike K, Hirai K, Gamo NJ, Hikida T, Nakayama KI, Sawa A, Sakurai T, Tomoda T. Methylphenidate and guanfacine ameliorate ADHD-like phenotypes in *Fez1*-deficient mice. *Mol Neuropsychiatry*, 査読有、3(4): 223-233、2018、DOI:10.1159/000488081
- (4) Kitanishi T, Ito HT, Hayashi Y, Shinohara Y, Mizuseki K, Hikida T. Network mechanisms of hippocampal laterality, place coding and goal-directed navigation. *J Physiol Sci*, 査読有、67(2): 247-258、2017、DOI: 10.1007/s12576-016-0502-z
- (5) Tomoda T, Hikida T, Sakurai T. Role of DISC1 in neuronal trafficking and its implication in neuropsychiatric manifestation and neurotherapeutics. *Neurotherapeutics*, 査読有、14(3): 623-629、2017、DOI: 10.1007/s13311-017-0556-5
- (6) Shioda N, Yabuki Y, Wang Y, Uchigashima M, Hikida T, Sasaoka T, Mori H, Watanabe M, Sasahara M, Fukunaga K. Endocytosis following dopamine D2 receptor activation is critical for neuronal activity and dendritic spine formation via Rabex-5/PDGFR signaling in striatopallidal medium spiny neurons. *Mol Psychiatry*, 査読有、22(8): 1205-1222、2017、DOI: 10.1038/mp.2016.200
- (7) Hayashi Y, Yawata S, Funabiki K, Hikida T. *In vivo* calcium imaging from dentate granule cells with wide-field fluorescence microscopy. *PLoS ONE*, 査読有、12(7): e0180452、2017、DOI: 10.1371/journal.pone.0180452
- (8) Morita M, Wang Y, Sasaoka T, Okada K, Niwa M, Sawa A, Hikida T. Dopamine D2L receptor is required for visual discrimination and reversal learning. *Mol Neuropsychiatry*, 査読有、2 (3): 124-132、2017、DOI: 10.1159/000447970
- (9) Macpherson T, Morita M, Wang Y, Sasaoka T, Sawa A, Hikida T. Nucleus accumbens dopamine D2-receptor expressing neurons control behavioral flexibility in a place discrimination task in the IntelliCage. *Learn Mem*, 査読有、23 (7): 359-364、2016、Doi: 10.1101/lm.042507.116
- (10) Hikida T, Morita M, Macpherson T. Neural mechanism of the nucleus accumbens circuit in reward and aversive learning. *Neurosci Res*, 査読有、VOL. 108、2016、1-5、DOI: 10.1016/j.neures.2016.01.004.
- (11) Hayashi Y, Sawa A, Hikida T. Impaired hippocampal activity at the goal zone on the place preference task in a DISC mouse model. *Neurosci Res*, 査読有、VOL. 106、2016、70-73、DOI: 10.1016/j.neures.2015.10.005.
- (12) Yamaguchi T, Goto A, Nakahara I, Yawata S, Hikida T, Matsuda M, Funabiki K, Nakanishi S. Role of PKA signaling in D2 receptor-expressing neurons in the core of the nucleus accumbens in aversive learning. *Proc Natl Acad Sci USA*, 査読有、Vol. 112、2015、11383-11388、DOI: 10.1073/pnas.1514731112.
- (13) Nakajima H, Kubo T, Ihara H, Hikida T, Danjo T, Nakatsuji M, Shahani N, Itakura M, Ono Y, Azuma Y, Inui T, Kamiya A, Sawa A, Takeuchi T. Nuclear-translocated glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase promotes poly(ADP-ribose) polymerase-1 activation during oxidative/nitrosative stress in stroke. *J Biol Chem*, 査読有、VOL. 290、2015、14493-14503、DOI: 10.1074/jbc.M114.635607
- (14) Sakurai T, Gamo NJ, Hikida T, Kim S-H, Murai T, Tomoda T, Sawa A. Converging models of schizophrenia - Network alterations of prefrontal cortex underlying cognitive impairments. *Prog Neurobiol*, 査読有、VOL. 134、2015、178-201、DOI: 10.1016/j.pneurobio.2015.09.010.

〔学会発表〕(計 70 件)

- (1) Hikida T. Basal ganglia network mechanisms in cognitive learning, 12th International Symposium of the Institute Network -Driving Next-Generation Medicine: the Spirit of

Pioneering Discovery in Medical Science、2017年

(2) Hikida T、Neuronal circuit mechanisms in reward and aversive behavior、Taiwan-Japan Biomedicine Conference NTHU-OU bilateral symposium 2017、2017年

(3) 正田貴俊、情動行動における大脳基底核神経回路機構とその破綻、平成29年度生理学研究所研究会 先天的と後天的なメカニズムの融合による情動・行動の理解と制御、2017年

(4) 正田貴俊、意思決定と薬物依存における大脳基底核神経回路機構、第39回日本生物学的精神医学会、2017年

(5) 正田貴俊、認知学習と精神疾患における神経回路機構、第47回日本神経精神薬理学会、2017年

(6) Hikida T、Dual neural circuits in reward and aversive learning、第27回神経回路学会、2017年

(7) Hikida T、Basal ganglia circuit mechanisms for flexible behavior、第40回日本神経科学大会、2017年

(8) 正田貴俊、柔軟な行動のための大脳基底核神経回路の恒常性維持機構とその破綻、第90回日本薬理学会、2017年

(9) 正田貴俊、認知学習におけるドーパミン D2L 受容体の役割解析、新潟脳神経研究会第310回例会、2017年

(10) 正田貴俊、ドーパミンによる大脳基底核神経回路の制御機構、平成28年度日本アルコール・アディクション医学会学術総会、2016年

(11) 正田貴俊、精神疾患におけるドーパミン神経ネットワーク機構、第89回日本薬理学会年会、2016年

(12) 正田貴俊、報酬と忌避の意志決定の機構解析、平成27年度包括脳ネットワーク冬のシンポジウム、2015年

(13) 正田貴俊、薬物依存形成における大脳基底核神経回路機構、平成27年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会、2015年

(14) 正田貴俊、快・不快情報に基づく行動選択における大脳基底核神経回路機構、平成27年度生理学研究所研究会 情動の多次元的理解に基づく行動原理の探求、2015年

〔産業財産権〕

出願状況(計 1 件)

名称：精神疾患モデル動物およびその製造方法

発明者：岡 正啓、盛山 哲嗣、米田 悦啓、宮本 洋一、辻井 聡、正田 貴俊、森田 真規子

権利者：国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所、国立大学法人京都大学

種類：特許

番号：PCT/JP2018/005019

出願年月日：2018年2月14日

国内外の別：国外

取得状況(計 1 件)

名称：大脳基底核神経回路の神経伝達を解析する方法

発明者：正田 貴俊、中西 重忠

権利者：国立大学法人京都大学

種類：特許

番号：第5728471号

取得年月日：2015年4月10日

国内外の別：国内

〔その他〕

受賞

1. 正田 貴俊、日本生物学的精神医学会 若手研究者育成プログラム最優秀奨励賞、2016年9月9日

2. 正田 貴俊、日本神経精神薬理学会 第6回学術奨励賞、2017年9月29日

アウトリーチ

1. 正田 貴俊、ここをつくる脳のタンパク質。高校生のための特別公開講座：蛋白質-生命を担うこの身近で不思議な物質。大阪大学蛋白質研究所、2017年8月2日

2. 正田 貴俊、脳で働くタンパク質、脳を調べるタンパク質。大阪大学リサーチクラウドカフェ。アートエリア B1、2017年11月8日

6. 研究組織

研究協力者

研究協力者氏名：マクファーソン トム

ローマ字氏名：(MACPHERSON, Tom)

研究協力者氏名：森田 真規子

ローマ字氏名：(MORITA, Makiko)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。