

令和元年5月17日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2018

課題番号：16K14579

研究課題名（和文）プレパルスインヒビションの神経回路機構

研究課題名（英文）Neuronal circuit mechanisms in prepulse inhibition

研究代表者

疋田 貴俊（HIKIDA, Takatoshi）

大阪大学・蛋白質研究所・教授

研究者番号：70421378

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：脳に広く存在するマイクロRNAであるmiR-124-1のヘテロマウスの行動を系統的に解析した結果、プレパルスインヒビションの低下を認め、その異常の背景に大脳皮質前頭前野でのドーパミンD2受容体の発現増加を見出した。またオートファジー関連遺伝子であるUlk2のヘテロマウスにおいてもプレパルスインヒビションが低下しており、大脳皮質前頭前野錐体細胞でのp62の蓄積があることを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

統合失調症は複数の遺伝要因と環境要因の相互作用によって発症する複雑性疾患であり、非常に異種性の高い疾患群としての性質を持つ。そのため、共通した神経生理学的指標として確立しているプレパルスインヒビションに着目し、分子・神経回路機構を解明することは、統合失調症病態を新しい視点から解明するもので、治療法開発につながることを期待できる。

研究成果の概要（英文）：We have analyzed behavioral abnormality of miR-124-1 heterozygous mice, and found abnormal prepulse inhibition and increased expression of dopamine D2 receptor in the prefrontal cortex of miR-124-1 heterozygous mice. We also found abnormal prepulse inhibition and p62 accumulation in the pyramidal neuron of the prefrontal cortex in Ulk2 heterozygous mice.

研究分野：神経科学、精神医学

キーワード：統合失調症 モデルマウス ドーパミン マイクロRNA オートファジー 大脳皮質

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

1. 研究開始当初の背景

プレパルスインヒビションは驚愕刺激の直前に微弱な刺激が先行することにより驚愕反応が大幅に抑制される現象であり、sensorimotor gating の指標と考えられている。ヒトと動物で共通してみられ、かつ統合失調症患者と統合失調症モデルマウスの両方で低下が見られることから、統合失調症で唯一確立している神経生理学的指標である。プレパルスインヒビションは大脳皮質-大脳基底核神経回路によるとされているが、生理的および統合失調症病態における神経回路機構は分かっていない。

2. 研究の目的

統合失調症は複数の遺伝的要因と環境要因の相互作用によって発症する複雑性疾患であり、非常に異種性の高い症候群としての性質を持つ。そのため、共通した神経生理学的指標として確立しているプレパルスインヒビションに着目し、その神経回路機構の解明を目指す。また、遺伝-環境相互作用によって行動異常を示す統合失調症モデルマウスのプレパルスインヒビション低下に関連する神経回路の制御異常と分子病態を調べ、さらには同定した特定神経回路の制御によってプレパルスインヒビションの正常化、ひいては社会性低下などの行動異常の是正を試みることによって、統合失調症の神経回路に着目した病態解明と治療法開発につなげることを目的とする。

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および大阪大学蛋白質研究所の動物実験委員会の承認のもと実施し、動物実験に関する指針に従った。miR-124-1 ヘテロマウスは speed congenic method にて C57BL/6N の遺伝子背景とした(文献)。Ulk2 ヘテロマウスは C57BL/6J の遺伝子背景で維持した(文献)。

(2) プレパルスインヒビションは SR-LAB 社の聴覚驚愕反応測定装置を用いて、文献 に従い行なった。バックグラウンド白色ノイズを 70dB、20 ミリ秒間のプレパルスノイズ(74, 78, 82, 86, 90dB)、100 ミリ秒の遅延後に 40 ミリ秒、120dB の驚愕刺激を与え、290 ミリ秒の間驚愕反応を測定した。

4. 研究成果

(1) miR-124-1 ヘテロマウスのプレパルスインヒビション異常とその神経回路機構

マイクロ RNA は遺伝子発現を制御する small non-coding RNA である。その一つであるマイクロ RNA124-1(miR-124-1)は脳に広く発現しており、miR-124-1 のノックアウトマウスは脳の発生に大きく影響を与える(文献)。ヒトの miR-124-1 遺伝子は染色体 8p23.1 領域に位置し、染色体 8p23.1 領域のハプロ不全は、統合失調症をはじめとする精神疾患との関連が報告されている(文献)。そのため、miR-124-1 ヘテロマウスを精神疾患遺伝モデルマウスとして、プレパルスインヒビションをはじめとした行動を観察した(文献)。miR-124-1 ヘテロマウスは社会的相互作用の低下、メタンフェタミン誘導行動量の増大に加えて、プレパルスインヒビションの低下が見られた。このプレパルスインヒビションの低下は大脳皮質前頭野への miR-124 の遺伝子導入によって部分的にレスキューされた。miR-124-1 ヘテロマウスの大脳皮質前頭野では、ドーパミン D2 受容体 mRNA 発現量の増加、第 5 層錐体神経細胞の興奮性および抑制性シナプス伝達および D2 シグナルの増幅が確認された。そこで shRNA による D2 受容体のノックダウンを miR-124-1 ヘテロマウスの大脳皮質前頭野に行くと、プレパルスインヒビションの有意な改善が見られた。これらから miR-124-1 +/- マウスのプレパルスインヒビションの低下には大脳皮質前頭野における D2 受容体を介したドーパミンシグナルの関与が示唆された。本研究結果は大阪大学蛋白質研究所分子発生学研究室、生理学研究所などとの共同研究によるものである。

(2) Ulk2 ヘテロマウスのプレパルスインヒビション異常とその神経回路機構

Ulk2 は細胞内ストレスに応答するオートファジー関連分子のひとつである。神経細胞においてオートファジーは細胞内恒常性維持機構として働いているため(文献) Ulk2 ヘテロマウスを精神疾患遺伝モデルマウスとして、プレパルスインヒビションをはじめとした行動を観察した(文献)。Ulk2 ヘテロマウスはプレパルスインヒビションの低下が見られ、この異常は抗精神病薬クロザピンでは是正できず、ラバマイシンアナログである CCI-779 の投与により正常化した。Ulk 遺伝子除去をインターニューロンに限定するとプレパルスインヒビションの低下は観察されず、Ulk 遺伝子除去を CaMKII プロモーターにより錐体神経細胞に限定するとプレパルスインヒビションの低下が見られた。Ulk2 ヘテロマウスにおいて大脳皮質前頭前野錐体細胞に Ulk2 の基質である p62 の蓄積が見られており、大脳皮質前頭前野錐体細胞のオートファジー低下がプレパルスインヒビション異常に繋がっていることが示された。本研究結果は京都大学、トロント大学、ジョンスホプキンス大学などとの国際共同研究によるものである。

(3) 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 Scientific Reports 誌、Human Molecular Genetics 誌などの国際ジャーナルに受理された。前項の研究成果については京都大学よりプレスリリースを行い、

Neurobiology of Disease 誌の総説論文で解説・引用された。

(4) 考察と今後の展望

miR-124-1ヘテロマウスとUlk2ヘテロマウスにおけるプレパルスインヒビション異常とその神経回路機構の解析から大脳皮質前頭前野とドーパミン神経回路の関与が示唆された。今後、大脳皮質-大脳基底核神経回路がどのようにプレパルスインヒビションの神経回路機構に関与しているかを明らかにしていく。

<引用文献>

Kozuka T et al., miR-124 dosage regulates prefrontal cortex function by dopaminergic modulation, *Sci Rep*, Vol. 9, 2019, 3445

Sumitomo A et al., Ulk2 controls cortical excitatory-inhibitory balance via autophagic regulation of p62 and GABAA receptor trafficking in pyramidal neurons, *Hum Mol Genet*, Vol. 27, 2018, 3165-3176

Takahashi N et al., Increased expression of receptor phosphotyrosine phosphatase- / is associated with molecular, cellular, behavioral and cognitive schizophrenia phenotypes, *Transl Psychiatry*, Vol. 1, 2011, e8

Sanuki R et al., miR-124 is required for hippocampal axogenesis and retinal cone survival through Lhx suppression, *Nat Neurosci*, Vol.14, 2011, 1125-1134

Bassett AS et al., Clinically detectable copy number variation in a Canadian catchment population of schizophrenia, *J Psychiatr Res*, Vol.44, 2010, 1005-1009

Tomoda T, Hikida T, Sakurai T, Role of DISC1 in neuronal trafficking and its implication in neuropsychiatric manifestation and neurotherapeutics. *Neurotherapeutics*, Vol.14, 2017, 623-629

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 25 件)

(1) Hikida T, Morita M, Kuroiwa M, Macpherson T, Shuto T, Sotogaku N, Niwa M, Sawa A, Nishi A. Adolescent psychosocial stress enhances sensitization to cocaine exposure in genetically vulnerable mice. *Neurosci Res*, 査読有、2019、Epub ahead of print、DOI: 10.1016/j.neures.2019.02.007

(2) Macpherson T, Hikida T. The role of basal ganglia neurocircuitry in the pathology of psychiatric disorders. *Psychiatry Clin Neurosci*, 査読有、2019、Epub ahead of print、DOI: 10.1111/pcn.12830

(3) Murata K, Kinoshita T, Fukazawa Y, Kobayashi K, Yamanaka A, Hikida T, Manabe H, Yamaguchi M. Opposing roles of dopamine receptor D1- and D2-expressing neurons in the anteromedial olfactory tubercle in acquisition of place preference in mice. *Front Behav Neurosci*, 査読有、13: 50、2019、DOI: 10.3389/fnbeh.2019.00050

(4) Macpherson T, Mizoguchi H, Yamanaka A, Hikida T, Preproenkephalin-expressing ventral pallidal neurons control inhibitory avoidance learning. *Neurochem Int*, 査読有、126: 11-18、2019、DOI: 10.1016/j.neuint.2019.02.011

(5) 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

(6) 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

(7) Higashida S, Nagai H, Nakayama K, Shinohara R, Taniguchi M, Nagai M, Hikida T, Yawata S, Ago Y, Kitaoka S, Narumiya S, Furuyashiki T. Repeated social defeat stress impairs attentional set shifting irrespective of social avoidance and increases female preference associated with heightened anxiety. *Scientific Reports*, 査読有、8(1):10454、2018、doi: 10.1038/s41598-018-28803-1

(8) Macpherson T, Hikida T. Nucleus accumbens dopamine D1-receptor-expressing neurons control the acquisition of sign-tracking to conditioned cues in mice. *Front Neurosci*, 査読有、12:418、2018、DOI: 10.3389/fnins.2018.00418

(9) 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

- (10) 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
- (11) 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
- (12) 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
- (13) 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
- (14) 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
- (15) 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
- (16) 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.
- (17) 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.

〔学会発表〕(計 70 件)

- (1) 正田貴俊, 大脳基底核から情動の神経回路機構とその破綻を考える、平成 30 年度生理学研究所研究会「情動の神経回路機構とその破綻」、2018 年
- (2) 正田貴俊, 大脳基底核における認知学習と精神疾患の制御機構、第 40 回日本生物学的精神医学会 第 61 回日本神経化学学会大会 合同年会、2018 年
- (3) Hikida T, Distinct roles of the direct and indirect striatal pathways in cognitive learning, 第 243 回つくばブレインサイエンス・セミナー、2018 年
- (4) 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
- (5) Hikida T, Neuronal circuit mechanisms in reward and aversive behavior, Taiwan-Japan Biomedicine Conference NTHU-OJ bilateral symposium 2017, 2017 年
- (6) 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
- (7) 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
- (8) 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
- (9) Hikida T, Dual neural circuits in reward and aversive learning, 第 27 回神経回路学会、2017 年
- (10) Hikida T, Basal ganglia circuit mechanisms for flexible behavior, 第 40 回日本神経科学大会、2017 年
- (11) 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
- (12) 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
- (13) 正田貴俊, ド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
- (14) 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

〔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

〔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. ころ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
3. 正田 貴俊. マウスの動きから脳のはたらきを知る. 大阪大学いちょう祭「生命の基本物質『蛋白質』を知る」大阪大学蛋白質研究所、2018年4月30日

ホームページ

「神経細胞のオートファジー機能の低下と精神疾患との関連を実証 - 精神疾患の新たな治療戦略の開発に期待 - 」

http://www.kyoto-u.ac.jp/ja/research/research_results/2018/180815_1.html

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。