

令和 2 年 6 月 30 日現在

機関番号：31602

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07044

研究課題名(和文)ダブルコルチン様キナーゼによる神経回路形成制御

研究課題名(英文)Neural circuit development regulated by doublecortin-like kinases

研究代表者

古泉 博之(Koizumi, Hiroyuki)

奥羽大学・薬学部・准教授

研究者番号：10334335

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：ダブルコルチン様キナーゼ、DCLK1及びDCLK2は、神経回路形成の様々な過程において機能し、ADHD(注意欠陥・多動性障害)や統合失調症等の発達障害との関連が示唆されている。一方、Dcl1k1/Dcl1k2ダブル欠損マウスは、ADHDの症状の一つである衝動性の亢進を示すことを明らかにしている。今回、ダブル欠損マウスの脳の組織学的解析およびモノアミン量測定を行い、前頭前皮質へのドーパミン神経投射の減少、前頭前皮質におけるドーパミン代謝回転の亢進、セロトニン量の減少、線条体におけるドーパミン量の増加が明らかとなった。以上より、これらのモノアミン神経系の異常が衝動性亢進に関与する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

衝動性は、ADHDや統合失調症などの発達障害や精神障害に見られる症状の一つである。また衝動性の亢進は、依存症や犯罪を引き起こすことがあり、さらに自殺との関連も言われており、その神経基盤の研究が望まれる。衝動性にはモノアミン神経系が関与するが、それぞれのモノアミンがどのように関わるかはまだ分かっていないことが多い。今回、神経回路形成において機能するDCLK1、DCLK2の欠損マウスは、衝動性亢進を示し、モノアミン神経系の異常を伴う動物モデルとなることが分かった。今後、この動物を用いて病因となる神経回路の特定を行うことにより、衝動性の神経回路レベルでの理解及び治療法の確立に役立つことが期待される。

研究成果の概要(英文)：Doublecortin-like kinases, DCLK1 and DCLK2, function in the multiple stages of neural circuit development, yet their physiological significance in the brain function remains elusive. Recent genome wide association studies show the possible association of DCLK1 and DCLK2 with neurodevelopmental disorders such as attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) and schizophrenia. Furthermore, comprehensive behavior analysis of Dcl1k1/Dcl1k2 double knockout (DKO) mice shows their impulsive behavior in cliff avoidance test. Here we found ~30% decrease in the density of TH-positive fibers in the prefrontal cortex in DKO mice. DKO mice exhibited increased dopamine turnover in the prefrontal cortex, increased dopamine levels in the striatum and reduced serotonin (5-HT) levels in the prefrontal cortex. Those results suggest that the deficiency in dopaminergic pathway or /and serotonergic pathway might be involved in the impulsive behavioral phenotypes observed in DKO mice.

研究分野：神経科学

キーワード：神経回路形成 発達障害 ADHD 衝動性 ドーパミン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ダブルコルチンキナーゼ DCLK1 及び DCLK2 は、神経特異的なセリン・スレオニンタンパク質キナーゼであり、脳神経回路の形成過程において、神経細胞移動、軸索伸長、樹状突起形成と様々な機能を持つ。ヒト疾患ゲノム解析の進展により、DCLK1 及び DCLK2 は、ADHD(注意欠陥・多動性障害)や統合失調症などの発達障害や精神障害と関連することが示唆された。一方、我々は *Dclk1/Dclk2* ダブル欠損マウスの網羅的行動解析を行い、断崖回避テスト(逆さまに立てた 20cm 程の高さのピーカー上に置いた際に下に飛び降りる頻度を測定)にて飛び降り行動が有意に増加しており、衝動性が亢進していることを見出した。衝動性は、ADHD や統合失調症などの発達障害や精神障害に見られる症状の一つである。衝動性にはモノアミン神経系(ドーパミン、セロトニン、ノルアドレナリン)が関与することが知られているが、それぞれのモノアミンがどのように関わるかはまだ分かっていないことが多い。

2. 研究の目的

Dclk1/Dclk2 ダブル欠損マウスにおいてみられる衝動性亢進に着目し、DCLK1/2 がどのようにして高次脳機能制御や病態に関わるのかを明らかにすることを目指す。これにより、ADHD や統合失調症などの発達障害や精神障害に見られる一つの症状である衝動性の病態理解、治療につなげることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 組織学的解析

行動解析に用いたものと同年齢(6~7ヶ月齢)の雄マウスの野生型 3 匹、*Dclk1/Dclk2* ダブル欠損マウス 3 匹より、脳を固定し、凍結マイクロトームを用いて脳切片を作製した。脳切片はドーパミン作動性神経細胞及びノルアドレナリン作動性神経細胞のマーカであるチロシンヒドロキシラーゼ抗体を用いて免疫蛍光染色を行った。

(2) 脳内モノアミン量測定

5~7ヶ月齢の野生型(雄 10 匹、雌 6 匹)およびダブル欠損マウス(雄 3 匹、雌 3 匹)を用いて測定を行った。マウスを断頭し、すばやく全脳を摘出した後、直ちに凍結させた。プレインスライサ及びパンチャーを用いて、測定する脳部位(前頭前皮質、側坐核、線条体、海馬、嗅球)のサンプルを採取し、ドーパミン、ノルアドレナリン、セロトニンおよびその代謝物含量を高速液体クロマトグラフィーにより測定した。

4. 研究成果

前頭前皮質におけるチロシンヒドロキシラーゼの染色を行った結果、*Dclk1/Dclk2* ダブル欠損マウスでは野生型に比べ、チロシンヒドロキシラーゼ陽性神経線維の密度が70%に減少していることが明らかとなった。さらに中脳ドーパミン作動性神経細胞の総数には有意な差は見られなかったが、中脳の腹側被蓋野、黒質緻密部および赤核後部に分けてドーパミン作動性神経細胞の数を調べたところ、ダブル欠損マウスでは野生型に比べ、腹側被蓋野では吻側において有意に減っており、黒質緻密部では変わらず、赤核後部では逆に有意に増えていた。以上の結果から、DCLK1 及び DCLK2 は中脳ドーパミン作動性神経細胞の前頭前皮質など他の脳部位への軸索投射に関与する可能性が示唆され、また中脳ドーパミン作動性神経細胞の配置異常を引き起こすことが明らかとなった。

次にドーパミン神経系の機能に異常があるかを調べるために、ドーパミン、セロトニン、ノルアドレナリンおよびその代謝物の脳各部位における量を測定した。その結果、野生型と *Dcl1/Dcl2*ダブル欠損マウスの間で有意差の見られたものとして、(1) 線条体(吻側)におけるドーパミン量の増加、(2) 前頭前皮質におけるドーパミンに対するドーパミン代謝産物のモル比(ドーパミン代謝産物(DOPAC + HVA)/ドーパミン)の増加、つまりドーパミンの代謝回転の増加、(3) 前頭前皮質におけるセロトニン量の減少が明らかになった。以上より、前頭前皮質において見られたドーパミン神経線維の減少とは一見異なり、前頭皮質においてドーパミン神経機能はむしろ亢進していることが示唆された。さらに今回初めて、ダブル欠損マウスにおいてドーパミン神経系だけでなく、セロトニン神経系の異常が示唆された。以上の成果より、*Dcl1/Dcl2*ダブル欠損マウスに見られる衝動性の亢進には、ドーパミン神経系、セロトニン神経系の異常が関与する可能性が考えられた。今後、このモデル動物を用いて薬物投与により神経回路の特定を行うことにより、衝動性の神経回路レベルでの理解及び治療法の確立に役立つことが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Koizumi Hiroyuki, Fujioka Hiromi, Togashi Kazuya, Thompson James, Yates John R., Gleeson Joseph G., Emoto Kazuo | 4. 巻 77 |
| 2. 論文標題 DCLK1 phosphorylates the microtubule-associated protein MAP7D1 to promote axon elongation in cortical neurons | 5. 発行年 2017年 |
| 3. 雑誌名 Developmental Neurobiology | 6. 最初と最後の頁 493 ~ 510 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/dneu.22428 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 該当する |

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 古泉 博之、水戸部知里、青山雄紀、富樫和也、永井拓、山田清文、榎本和生 |
| 2. 発表標題 神経回路形成および脳機能におけるダブルコルチン様キナーゼの役割 |
| 3. 学会等名 第40回 日本神経科学学会 |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 古泉 博之、水戸部 知里、奥山 圭、青山 雄紀、富樫 和也、永井 拓、山田 清文、野田 幸裕、榎本 和生 |
| 2. 発表標題 発達障害関連因子ダブルコルチン様キナーゼ欠損マウスの行動および組織学的解析 |
| 3. 学会等名 日本薬学会第140年会 |
| 4. 発表年 2020年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

[その他]

<http://www.ohu-u.ac.jp/faculty/pharmacy/staff/koizumi.html>

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|--|---------------------------|-----------------------|----|
|--|---------------------------|-----------------------|----|