

令和 2 年 6 月 3 日現在

機関番号：37111

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10285

研究課題名(和文)衝動性制御不全マウスモデルの行動および脳内モノアミン動態解析

研究課題名(英文) Analysis of behavior and monoaminergic metabolism of CNS (central nervous system) of mouse model expressing impulsive behaviors.

研究代表者

川崎 弘詔 (Kawasaki, Hiroaki)

福岡大学・医学部・教授

研究者番号：50224762

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：申請者らが作成したcAMP-GEF11 ノックアウト(KO)マウスCG2-KO マウスは、種々の行動解析の結果、衝動性制御不全モデルマウスとなる可能性が示唆された(2015, Kobayashi et al)。本研究では福岡大学医学部精神医学教室においてCG2-KOマウスを再生し脳内モノアミン動態の解析と行動解析を行い衝動性に関わる神経回路機構の解明を目的とした。CG2-KOマウスを対象に高架式十字迷路試験を行ったところ、総移動距離の上昇、オープンエリア滞在時間率の上昇とセンターエリア滞在時間率の減少が確認された。この結果は、不安の低下または衝動的選択の増加を示すと考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

衝動性制御不全は、多くの精神疾患に共通の症候として併存し、種々の行動異常の基盤となる。衝動性を引き起こす脳内の責任部位としては、眼窩面皮質、側坐核などが報告されており、先行研究からセロトニンやドーパミンなどのモノアミン系神経伝達物質の機能および代謝異常も報告されている。本研究では衝動性制御不全を示すCG2-KOマウスを実験対象として行動解析と脳内モノアミン動態の解析を行った。高架式十字迷路試験の結果、衝動的反射の亢進に起因すると考えられるセンターエリアの滞在時間率の減少が確認された。高架式十字迷路試験は、より簡便に衝動的反射の測定を行う手段となる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：As a result of various behavioral analysis, it was suggested that the cAMP-GEF11 knock-out (CG2-KO) mouse that we created may be an impulsive dysregulated model mouse. In this study, we aimed to elucidate the neural circuit mechanism related to impulsivity by analyzing cerebral monoamine dynamics and behavior using CG2-KO mice in Fukuoka University. In the elevated plus-maze test with CG2-KO mice, it was confirmed that the increasing of total travel distance and stay time rate in open area and decreasing of stay time rate in center area. This result may indicate decreased anxiety or increased impulsive choice.

研究分野：精神医学

キーワード：cAMP-GEF11 細胞内情報伝達系 衝動性制御 ノックアウトマウス 行動解析 マイクロダイヤリシス
モノアミン

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

申請者らは中枢神経で強く発現し、cAMP の新たな下流標的分子となる cAMP-GEFII を同定した (1998, Kawasaki). さらに cAMP-GEFII の中枢神経における機能解析を行うため、cAMP-GEFII ノックアウト(KO)マウス (CG2-KO マウス) を作製し、種々の行動解析を行った. その結果 CG2-KO マウスではホームケージと Open Field 課題における活動量がコントロール群に比べ、有意に増加していた.

また注意と衝動性を測定するため 5 選択注意反応時間課題 (5CSRTT) を行った. この課題は 5 つの穴のうち一つの穴が短い時間点灯している間に、その穴に鼻を突っ込むと報酬がもらえるという課題である. 点灯する時間が短くなると点灯を見逃さないための注意が必要となるため、これを注意の指標としている. また点灯するまでに一定の待ち時間があり、点灯するまでに穴に鼻を突っ込んだ回数を衝動性の指標としている. CG2-KO マウスにおいて刺激反応時間が短くなると衝動的反応の増加と不注意による誤反応数の増加が観察された(2015, Kobayashi).

更に衝動性の評価を行うために、T 字迷路を使った遅延ベースの意思決定課題を行った. まず左右のアームで高報酬が得られるアームと低報酬の得られるアームをマウスに弁別学習させた. 高報酬アームを 80% くらい選択する状態になると、高報酬アームを選択する際に遅延時間を設け、遅延時間による報酬価値の割引率を評価した. 本課題においては、CG2-KO マウスは遅延時間 5 秒で有意に高報酬アームを選ばず、CG2-KO マウスは遅延時間による報酬の割引率がコントロールより高く衝動的選択を行っていることが観察された. これらの実験結果に基づいて、我々は、本 CG2-KO マウスを新規の衝動性制御不全モデルマウスと評価した.

衝動性は様々な側面を持ち合わせており、行動学的に大きく 3 つに分類される. ①活動量の更新 (多動性)、②待たなければならないが待てずに反応してしまう (衝動的反射)、③時間や労力によって報酬価値を著しく割引き、すぐに得られる低報酬を選ぶ (衝動的選択). 衝動性を引き起こす脳内の責任部位としては、眼窩面皮質、側坐核などが報告されている. また、先行研究からセロトニンやドーパミンなどのモノアミン系神経伝達物質の機能および代謝異常も報告されている. このように衝動性に関わる脳部位や物質的基盤は徐々に明らかになりつつあるが、それらがどのようなメカニズムで衝動性を引き起こすのか、また脳部位と物質系の関係など未だ不明な点が多い.

衝動性制御不全は、統合失調症、大うつ性障害、双極性障害、強迫性障害、注意欠陥多動性障害 (ADHD)、摂食障害、人格障害などをはじめとする種々の精神疾患において、共通に併存する症候であり、薬物中毒、依存、嗜癖、攻撃性、暴力行為、自殺関連行動など種々の行動異常を惹起することが知られている. しかし、衝動性と脳部位、物質的基盤、および衝動性発現のメカニズムは不明である.

- Kawasaki et.al. A Rap guanine nucleotide exchange factor enriched highly in the basal ganglia. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., (1998)
- Kobayashi et.al. Involvement of cAMP-guanine nucleotide exchange factor II in hippocampal long-term depression and behavioral flexibility. Molecular brain (2015)

2. 研究の目的

我々は、本研究において、CG2-KO マウスを対象に、各脳部位でのモノアミンとその代謝産物を計測し、行動解析を行うことにより、衝動性制御における脳部位とモノアミン動態の関連を明らかにし、衝動性の抑制回路機構を解明することを目的とした.

3. 研究の方法 (予定されていたもの)

まず、申請者の所属する福岡大学に CG2-KO マウスの凍結胚を移管し系統再生を行う. 再生した個体から繁殖を行い実験に使用する CG2(-/-)の個体を得る.

得られた CG2-KO マウスを解析し以下を明らかにする.

- オープンフィールド、高架式十字迷路、尾懸垂試験を行い、運動能力、常同行動、不安様行動、うつ様行動について解析を行う。
- in vivo 微量透析法 (マイクロダイヤリシス法) を行い、行動中の脳内におけるモノアミン代謝を記録しコントロール群と比較する。

以上の結果をもとに更なる解析として以下を予定している.

- 脳部位あるいは細胞種特異的な条件変異 CG2-KO マウスを作製し、衝動性制御を担っている脳の神経回路を明らかにする。

4. 研究成果

CG2-KO マウスの移管と系統再生に時間がかかってしまったため、CG2-KO マウスの再生と解析に

着手したが、条件変異マウスの解析まで進めることはできなかった。

系統再生が困難であった理由のひとつとして、精子の運動性の低下が観察されている。ノーザンブロット解析により cAMP-GEFII mRNA が睪丸で発現していることが確認されており、cAMP-GEFII の欠失が精子の運動能力に影響を与える可能性は無視できないが、その変化が実際に CG2 の欠失の影響によるものであるかは更なる研究が必要である。

CG2-KO マウスを対象に高架式十字迷路試験を行ったところ、総移動距離の上昇、オープンエリア滞在時間率の上昇とセンターエリア滞在時間率の減少が確認された。この結果は、不安の低下または衝動的選択の増加を示すと考えられる。衝動性の研究を行う上で、行動解析に使用する什器が高価かつ大型であることは、新たに研究に参加するための障害のひとつである。本結果はより一般的な高架式十字迷路を用いて得られた結果であるため、結果の妥当性について検討を行い、衝動性の研究を広く進める助けとしたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 後藤玲央、中村莞爾、木之下藤真、福田早彩、小林義輝、村瀬新武、田口公之、大串祐馬、飯田仁志、川寄弘詔
2. 発表標題 cAMP-GEFII (EPAC2) 欠損マウスにおける行動および脳内モノアミン発現変化の解析
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
連携研究者	後藤 玲央 (Gotoh Leo) (70625194)	福岡大学・601・28 (37111)	
連携研究者	小林 祐樹 (Kobayashi Yuki) (90738270)	国立研究開発法人理化学研究所・999・24 (82401)	
連携研究者	糸原 重美 (Itohara Shigeyoshi) (60252524)	国立研究開発法人理化学研究所・999・24 (82401)	