

平成 22 年 6 月 4 日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008～2009

課題番号：20790203

研究課題名 (和文) 栄養因子によるドーパミン発達調節と神経機能障害

研究課題名 (英文) Regulation of dopaminergic neuron development by trophic factor and neurofunction disorder

研究代表者

水野 誠 (ミズノ マコト)

新潟大学・超域研究機構・准教授

研究者番号：20345515

研究成果の概要 (和文)：幼若期に炎症性サイトカインである上皮成長因子 (EGF) を投与したラット (EGF モデル) は成長後にドーパミン神経の発達や機能が障害しており、ヒト精神疾患類似の認知機能障害を呈し、モデル動物として利用できることを発見した。

研究成果の概要 (英文)： Neonatal administration of EGF perturbs dopaminergic development or function and induces schizophrenia-related abnormalities in cognitive and behavioral traits in adult stage. EGF treated rat was established as the model for schizophrenia.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	2,600,000	780,000	3,380,000
2009 年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：薬理学、神経化学

科研費の分科・細目：基礎医学・薬理学一般

キーワード：栄養因子、ドーパミン、認知、情動

1. 研究開始当初の背景

これまで高次脳機能としての学習記憶に関して行動実験を中心に検討を進め、脳由来神経栄養因子 (BDNF) とその受容体 TrkB が記憶の獲得および維持において重要な役割を担っていることを発見した。神経栄養因子は、シナプス可塑性などの長期増強や行動研究での学習といった課題を中心に研究されている。認知や記憶においても、神経栄養因子群は深く関与していることが示唆されている。さらにドパミン神経系も認知や記憶に関与していることが報告されている。上皮成長因子 (EGF) や BDNF などのサイトカインはドパミン作動性神経系の回路形成ならびにその機能維持に働くことが確かめられているが神経栄養因子が作用する認知、情動行動への影響に対して、ドパミン神経系の関与の実態や程度はわかっていない。

統合失調症に代表される精神疾患症状については、陽性症状 (幻覚、妄想、奇異な行動など) と陰性症状 (感情の平板化、意欲低下、社会的引きこもりなど)、認知機能障害 (作業記憶障害、言語障害、注意欠陥) が見られ、個々の患者において多様の病態を示している。疾患の根本機序は未定であるが、病因の一つに、神経伝達物質の一つであるドパミンが中脳辺縁系で過剰に賦活化されることが知られている。ドパミンのみならずノルアドレナリン、セロトニンなどのモノアミンは快・不快、喜怒哀楽などの情動に影響を与える。モノアミンニューロンは、脳内に特定の局在を持ち、他のニューロンとネットワークをつくりながら、調節系として情動の神経回路に働くことで行動変化がもたらされると考えられる。線条体においてドパミンニューロンの分化発達ならびにその機能維持に働くサイトカインの一つに、上皮成長因子があり、細胞間の相互作用を担う拡散性のタンパク質因子である。脳の病態、精神疾患と言われる統合失調症、うつ病、痴呆症や注意欠陥多動障害といった疾患においては、サイトカインと神経ネットワークの異常が知られるようになった。

2. 研究の目的

上記の研究背景から、本研究では神経栄養因子が作用する認知、情動行動への影響に対して、どのようにドパミン神経系が関与しているのかを研究目的とする。具体的には、①サイトカインによる認知行動変化を解析する研究と②ドパミン神経系の発達における認知行動異常の制御メカニズムについて研究する。

神経栄養因子がドパミン神経系に影響を与えることで間接的に記憶および情動などの制御やその障害に関わっている可能性を検討し、栄養因子が関与する中脳ドパミン神経の機能発達の実態と認知情動変化との関係を分子レベルで探る。

3. 研究の方法

(1) EGF 投与ラットの作製

EGF を幼若期 (生後 2 日から 10 日) に一時的に投与して作製する (幼若期 EGF 投与ラット)。一方で成熟ラットに対してミニ浸透圧ポンプ注入して、一過的に EGF を作用させるラットを使用する (成熟期 EGF 投与ラット)。

(2) 遺伝子改変マウスの作製

EGF 遺伝子の改変マウスを作製または入手し、行動実験に使用する。

(3) EGF 遺伝子の改変マウスおよび EGF 投与ラットの行動解析

一般行動 (自発運動量) および学習行動を解析する。固執性異常の解析に有効な Latent inhibition (潜在学習抑制) を測定する。潜在学習として嫌悪学習、空間学習、認知機能学習試験を行い、脳機能変化における栄養因子の関与を評価する。

(4) シグナルタンパク因子の測定

行動解析の後、脳を取り出し前頭皮質、海馬、線条体、側座核などに区分けし、EGF や BDNF のシグナルに関するタンパク因子の発現変化を Western blot 法で測定する。チロシン水酸化酵素 (TH) やドパミントランスポーター (DAT) の発現変化を測定し、ドパミンとその代謝物を HPLC で確認する。さらに TH

や DAT の免疫染色を実施しドパミン神経の解剖学的構造変化の有無を確認する。

4. 研究成果

(1) 本実験では栄養因子として上皮成長因子 (EGF) を用いた。生後 2 日から 10 日までの仔ラットへ EGF を過剰に投与した。その成熟後のラットを実験に使用した。また、成熟ラットに対してミニ浸透圧ポンプ注入して EGF を作用させるラットを使用した。

(2) EGF 遺伝子を過剰に発現するマウスを入手し、行動実験に使用したところ、このマウスは自発運動量が高く、嫌悪学習が低下する傾向であった。マウスでは条件付け学習の成立が難しかった。そのため、EGF を過剰に作用させたラットを実験に使用した。

(3) (1) で作成したラット (幼若期 EGF 投与ラット) の行動解析を行った。一般運動として自発運動量を計測したところ、EGF 投与群で水平運動量が亢進していた。学習行動を測定したところ、対照群との有意な違いは認められなかった。しかしながら、認知、固執性試験としてラテントインビジョンテストを行ったところ、ラテントインビジョンが阻害されていた。EGF 投与群で認知機能が抑制され、固執性の増加が認められた。これらの異常行動は抗精神病薬で改善した。さらに成熟ラット (成熟期 EGF 投与ラット) で測定したところ、同様に EGF 投与群で認知機能が抑制され、固執性の増加が認められた。

(4) 行動試験の解析の後、脳を採取し、前頭皮質、海馬、線条体、側座核、淡蒼球に区分けした。ドパミン神経活性を評価するため、チロシン水酸化酵素 (TH) をウエスタンブロットで測定したところ、一部の脳部位で TH の発現量に変化が見られた。モノアミン代謝が亢進していた。さらに EGF を過剰に投与した群では TH ファイバーの増加が見られた。したがって、TH が増加することでドパミン量の放出が増大する可能性が示唆され、行動の変化に対してドパミン神経の関与が考えられた。これらの結果から、EGF の作用による認知機能の抑制は脳内のドパミン神経系が関与していることが示唆された。

(成果のまとめ)

幼若期ラットに EGF を末梢から過剰量投与したところ、脳内の EGF 受容体 ErbB1 が活性化し、チロシン水酸化酵素 TH の発現が増大した。EGF 投与動物は成熟後、認知機能や運動量に異常が見られ、これらの行動異常は抗精神病薬で改善したことから、認知機能障害のモデル動物として利用できる可能性が認められた。本モデル動物での障害メカニズムを調べるために、ドパミンの量やその代謝機能の測定、さらに成熟ラットに対して脳内への EGF 持続注入試験を行い解析した。実験結果から EGF 投与動物で発生する障害は、幼若期に EGF 刺激によりドパミン神経が過剰に活性化され、その活性は成熟後も持続して亢進していることに起因することが判明した。今後はこれらの作用機序に基づいて、新規の抗精神病薬の開発に期待できるものと思われる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

① Mizuno M, Kawamura H, Takei N, Nawa H. The anthraquinone derivative Emodin ameliorates neurobehavioral deficits of a rodent model for schizophrenia. J Neural Transm 査読有;115, 2008, 521-530

② Tsuda N, Mizuno M, Yamanaka T, Komurasaki T, Yoshimoto M, Nawa H. Common behavioral influences of the ErbB1 ligands transforming growth factor alpha and epiregulin administered to mouse neonates. Brain Dev 査読有;30, 2008, 533-543.

[学会発表] (計 4 件)

① 水野誠
Function of EGF receptor signaling in the neonatal hippocampal lesion model of schizophrenia
第 39 回北米神経科学会
平成 2009 月 11 月
シカゴ、アメリカ合衆国

② 水野誠

Function of EGF receptor signaling in the neonatal hippocampal lesion model of schizophrenia

第 52 回本神経化学学会大会

平成 2009 月 6 月

群馬県

③ 水野誠、鄭英君、外山英和、那波宏之

Effects of tyrosine kinase inhibitors on behavioral experiments in the neonatal hippocampal lesion model of schizophrenia

第 38 回北米神経科学会

平成 2008 月 11 月

ワシントン DC、アメリカ合衆国

④ 水野誠、鄭英君、川村宏樹、那波宏之

Antipsychotic effects of ErbB1 tyrosine kinase inhibitors on behavioral deficits in the neonatal hippocampal lesion model of schizophrenia

第 51 回日本神経化学学会大会

平成 2008 月 9 月

富山県

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年月日 :

国内外の別 :

○取得状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

取得年月日 :

国内外の別 :

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

水野 誠 (ミズノ マコト)

新潟大学・超域研究機構・准教授

研究者番号 : 20345515

(2) 研究分担者

()

研究者番号 :

(3) 連携研究者

()

研究者番号 :