

令和 5 年 6 月 27 日現在

機関番号：13201

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2022

課題番号：20K22702

研究課題名（和文）双極性障害モデル動物の作成に関する基礎的研究

研究課題名（英文）Effects of Teneurin-4 knockdown in prefrontal cortex of mice

研究代表者

浅野 昂志（Asano, Takashi）

富山大学・学術研究部薬学・和漢系・助教

研究者番号：00884751

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000 円

研究成果の概要（和文）：双極性障害は躁状態とうつ状態を繰り返す精神疾患である。ゲノムワイド関連解析より、双極性障害患者においてODZ4遺伝子に変異があることが報告されている。Teneurin-4は、ODZ4によってコードされるタンパク質であり、神経軸索の伸長や髄鞘の形成に寄与している。しかしながら、双極性障害の発症とTeneurin-4との詳細な関連は明らかとなっていない。本研究では、Teneurin-4を前頭前皮質でノックダウンしたマウスを作成し、行動表現型の変化を検討した。その結果、前頭前皮質特異的にTeneurin-4をノックダウンしたマウスは、うつ様行動、躁様行動および不安様行動を示すことが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の学術的特色は、これまでなかった双極性障害モデル動物の創出を目的とし、ゲノムワイド関連解析で関連が示唆されている特定遺伝子に着目し、前頭前皮質特異的に目的遺伝子をノックダウンしたマウスを作成し、その行動表現型に与える影響を検証した。申請者の研究成果により、適切な双極性障害モデル動物を作成することで、様々な病態を複雑に繰り返す双極性障害の新たな治療法・治療薬の開発に貢献できる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：Bipolar disorder is a psychiatric disorder characterized by recurrent manic and depressive episodes. Genome-wide association study has revealed mutations in the ODZ4 gene in bipolar patients, and Teneurin-4, a protein encoded by ODZ4, contributes to nerve axons and the formation of myelin. However, the detailed relationship between Teneurin-4 and the development of bipolar disorder has not been clarified. In this study, we generated mice in which Teneurin-4 was knocked-down in the prefrontal cortex and examined changes in behavior. These results suggest that Teneurin-4 knockdown mouse exhibited depressive, manic, and anxiety-like behaviors.

研究分野：神経精神薬理学

キーワード：双極性障害 前頭前皮質 うつ

### 1. 研究開始当初の背景

双極性障害は、興味の消失や自殺念慮などを伴ううつ状態と活動量の異常な増加や幻覚・幻聴などを伴う躁状態を複雑に繰り返す精神疾患である。双極性障害患者は、治療によって一時的に症状が緩和し寛解期を向かえることもあるが、約 90% の患者が再発を経験しているとの報告もあり、根治は極めて困難である。さらには、双極性障害患者は、不安障害、睡眠障害など併存疾患をほぼ必発することから、有効な治療法・治療薬の開発は急務である。しかしながら、双極性障害は、その複雑な病態を模した動物モデルが存在せず、これまで基礎研究がほとんどなされていない。

近年、大規模ゲノム関連解析によって、双極性障害患者において、ODZ4 遺伝子の多型が報告されている。ODZ4 は、主に中枢神経細胞に発現している Teneurin-4 をコードしている。Teneurin-4 は、ニューロン間のシナプス結合やシナプス形成の促進などに関与することが明らかとなっているが、双極性障害の発症との詳細な関連はいまだ明らかとなっていない。また、脳画像解析研究において、双極性障害患者は、健常人と比較して前頭前皮質の体積が減少していることが報告されている。

そこで申請者は、双極性障害に関連する ODZ4 遺伝子変異に着目し、前頭前皮質特異的に Teneurin-4 をノックダウンしたマウスを作成し、その行動表現型への影響を検証した。

### 2. 研究の目的

申請者は、双極性障害に関連する ODZ4 遺伝子変異に着目し、前頭前皮質特異的に Teneurin-4 をノックダウンしたマウスを作成し、その行動表現型を明らかにすることで、これまでになかった双極性障害モデル動物を確立することで、新たな治療法開発に向けた基礎的知見を見出すことを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### 1. CRISPR/Cas9 システムを用いたマウス前頭前皮質特異的 Teneurin-4 ノックダウンマウスの作成

7 週齢雄性 C57BL/6J マウスの両側の前頭前皮質 (AP: +1.9 mm, ML:  $\pm 0.4$  mm, DV: -2.3 mm from bregma) に CRISPR/Cas9 システムを利用した AAV ベクターを微量注入 (0.5  $\mu$ L /片側) し、前頭前皮質特異的に Teneurin-4 をノックダウンしたマウスを作成し、ウエスタンブロッティング法を用いて、Teneurin-4 の発現量を検討した。

#### 2. 各種行動試験による Teneurin-4 ノックダウンマウスの行動表現型の検討

上記 1 により作成したマウスの行動への影響を検証するため、各種行動試験を行った。

##### (1) 高架式十字迷路試験および明暗箱試験による不安様行動の評価

AAV ベクター注入から 6 週間後に、上記 1 で作成したマウスの不安様行動を評価するため、高架式十字迷路試験と明暗箱試験を行った。

##### (2) 尾懸垂試験、強制水泳試験およびスクロース嗜好性試験によるうつ様行動の評価

(1) の行動試験を実施した後、同様のマウスを用いて、うつ様行動を評価するため、尾懸垂試験および強制水泳試験を行った。また、これとは別のマウスを用いて、スクロース嗜好性試験により、うつ様行動を確認した。

##### (3) 長期的な行動量測定による躁様行動の評価

マウスのホームケージ内での行動量を 4 週間継続して測定し、そう様行動の検討を行った。また後半の 2 週間は、ホームケージ内にランニングホイールを設置し、同様に測定した。

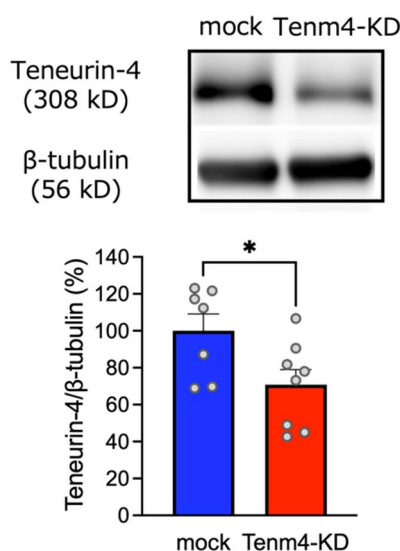


Figure 1 前頭前皮質における Teneurin-4 発現量の確認

#### 4. 研究成果

##### 1. CRISPR/Cas9 システムを用いたマウス前頭前皮質特異的 Teneurin-4 ノックダウンマウスの作成

AAV ベクターにより、前頭前皮質特異的に Teneurin-4 をノックダウンしたマウスの前頭前皮質を摘出し、ウエスタンブロッティング法を用いて、Teneurin-4 タンパクの発現量を評価した。その結果、Teneurin-4KD 群において、mock 群と比較して、前頭前皮質における Teneurin-4 の発現量が有意に減少していることが明らかとなった (Fig. 1)。

##### 2. 各種行動試験による Teneurin-4 ノックダウンマウスの行動表現型の検討

###### (1) 高架式十字迷路試験および明暗箱試験による不安様行動の評価

前頭前皮質特異的に Teneurin-4 をノックダウンしたマウスの行動表現型を明らかにすることを目的とし、様々な行動試験を行った。その結果、高架式十字迷路試験 (Fig. 2A) および明暗箱試験 (Fig. 2B) において、Teneurin-4 ノックダウンマウスで不安様行動が観察されることが明らかとなった。

###### (2) 尾懸垂試験、強制水泳試験およびスクロース嗜好性試験によるうつ様行動の評価

また、前頭前皮質特異的に Teneurin-4 をノックダウンしたマウスにうつ様行動がみられるかを検討するため、尾懸垂試験 (Fig. 2C)、強制水泳試験 (Fig. 2D) およびスクロース嗜好性試験 (Fig. 2E) を行った。その結果 Teneurin-4 ノックダウンマウスでうつ様行動が観察されることが明らかとなった。

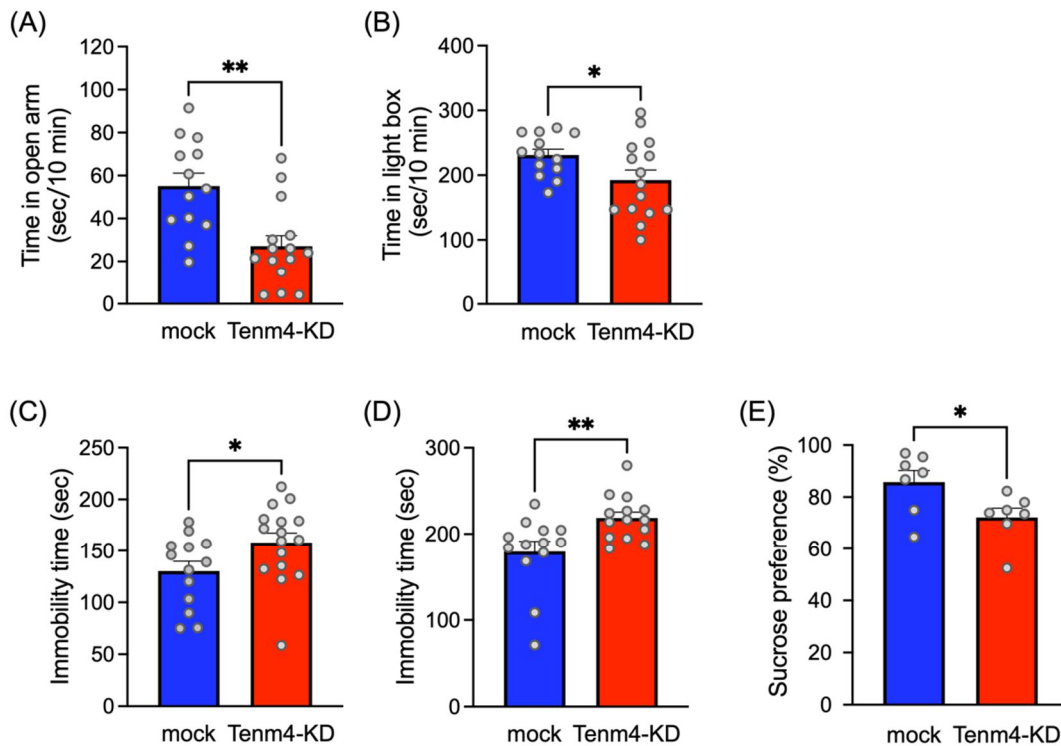


Figure 2 各行動試験

###### (3) 長期的な行動量測定による躁様行動の評価

次に、このマウスでそう様行動が観察されるかを明らかにするため、ホームケージ内での行動量の測定を行った。その結果、測定開始から4週間目において、Teneurin-4 ノックダウンマウスでは、行動量の増加傾向が観察された。さらにホームケージ内にランニングホイールを設置したところ、Teneurin-4 ノックダウンマウスにおいて、ホイールの回転数が有意に増加した。

以上の結果から、前頭前皮質特異的に Teneurin-4 をノックダウンしたマウスは、双極性障害にみられる躁状態およびうつ状態の行動表現形を示し、さらに双極性障害に併発する不安障害もみられることが明らかとなった。本モデルマウスは、これまでになかった双極性障害モデル動物として有用であることが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 徳竹 伯洸、浅野 昂志、泉尾 直孝、新田 淳美
2. 発表標題 マウス前頭前皮質CB1受容体の認知機能への関与
3. 学会等名 第95回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 杉森 祐一朗、浅野 昂志、泉尾 直孝、村松 慎一、新田 淳美
2. 発表標題 マウス海馬における Teneurin-4 発現減少によるうつ様行動の誘導
3. 学会等名 第95回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Takashi Asano, Kazuki Tokoro, Tomoya Horita, Naotaka Izuo, Shin-ichi Muramatsu, Atsumi Nitta
2. 発表標題 A novel bipolar mice model by Teneurin-4 reduction in the prefrontal cortex
3. 学会等名 アジア神経精神薬理学会（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tomohiro Tokutake, Takashi Asano, Shigetoshi Nakaya, Naotaka Izuo, Atsumi Nitta.
2. 発表標題 Key roles of CB1 receptors in the amygdala: ACPA induced place preference
3. 学会等名 アジア神経精神薬理学会（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 浅野昂志、所一輝、泉尾直孝、中野史崇、宮下正也、村松慎一、新田淳美
2. 発表標題 前頭前皮質でのTeneurin-4減少による双極性障害モデルマウスの作成
3. 学会等名 第94回日本薬理学会年会
4. 発表年 2021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
--	---------------------------	-----------------------	----

#### 7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

#### 8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------