

令和 3 年 6 月 22 日現在

機関番号：32409

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K08960

研究課題名(和文)母体免疫活性化による薬物依存への影響

研究課題名(英文)The effect of maternal immune activation on drug addiction

研究代表者

村上 元 (Murakami, Gen)

埼玉医科大学・医学部・講師

研究者番号：70613727

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)：胎児期におけるウイルス感染による薬物依存への影響を評価するため、発達障害モデルとして世界的に用いられている母胎免疫活性化を用い、行動量測定、社会行動テスト、プレパルス抑制試験への影響を解析した。その結果、行動量測定とプレパルス抑制試験において母体免疫活性化による影響が観測されたが、社会行動テストにおいては影響は見られなかった。同様に薬物依存の指標としてよく用いられるコカイン投与による行動感作への影響を調べたが、影響は確認されなかった。また、母胎免疫活性化によるドーパミン系を中心に様々な脳部位における遺伝子発現の変化を網羅的に解析した結果、様々な原因遺伝子を見出すことに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で薬物依存の脆弱性を決定する環境要因として着目したMHCIは、我々がはじめて薬物依存を制御する事を発見した分子である。予想と異なり母体免疫活性化による薬物依存への影響は本研究では観測できなかったが、MHCIが制御するドーパミン系は統合失調症、自閉症、注意欠陥多動性障害といった発達障害にも関係する。従って本研究で明らかにした母体免疫活性化によるMHCIの発現制御異常は、発達障害の原因因子にもなり得る。実際に胎児期の免疫活性化が発達障害へ寄与することが危惧されている。以上のことから本研究の成果は発達障害への影響を示唆し、その意義は大きい。

研究成果の概要(英文)：Developmental disorders such as attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD), autism spectrum disorder (ASD) and schizophrenia remain a serious public health problem worldwide. However, the mechanism has not been elucidated and further understanding is important. In this study, we used maternal immune activation (MIA), which is one of the most frequently used animal models for the study of developmental disorders. MIA-treated mice were analyzed for locomotor activity, social behaviors and pre-pulse inhibition in adulthood. We found altered locomotor activity and pre-pulse inhibition but not social behaviors. We also analyzed cocaine-induced behavioral sensitization but MIA treatment did not have effects on the behavior. We also performed comprehensive analysis of gene expression in dopamine-related brain regions in MIA-treated mice. We found that various gene expressions were altered, providing a novel landmark in the pathogenesis of developmental disorders.

研究分野：神経科学

キーワード：母胎免疫活性化 ドーパミン

1. 研究開始当初の背景

MHCI と薬物依存

アルコール、ニコチンをはじめ危険ドラッグ等、ドーパミン系の疾患である薬物依存は摂取を止めてから長期間経た後でも薬物の探索行動を繰り返す。日本でも大きな社会問題となっているが、効果的な薬物療法が存在しないために再発率が極めて高い。薬物摂取者の内、約 80%は深刻な依存に陥らないが、残りの 20%が薬物依存に脆弱な特質を保持し深刻な依存に陥る。このことから脆弱性の発現機構を明らかにし、改善することは非常に重要であると考えられる。しかし薬物依存への脆弱性は遺伝的要因や発達期の環境要因が複雑に絡み合って発現すると考えられており、具体的な要因はまだ解っていない。

私はこれまでに、困難であったマウスの薬物自己投与システムを新規開発し、様々な遺伝子改変マウスを評価し、薬物依存に関わる遺伝子を探索した。その結果、主要組織適合性複合体抗原クラス 1 (MHCI) の欠損型マウスが約 2 倍もの薬物探索行動を示すことを見出した。野生型マウスにおいも、薬物摂取がドーパミン神経細胞の MHCI 発現を恒常的に減少させ、薬物探索行動を持続させることを明らかにした。またその機構として、MHCI の欠損や減少により報酬機能を担うドーパミン神経細胞への入力神経結合が増強することを電気生理学的手法や、神経結合の場であるスパインの形態解析により明らかにした。更にアデノ随伴ウイルスを用いてドーパミン神経細胞特異的に MHCI を強制発現させ、薬物によるドーパミン神経細胞の MHCI 減少を補うと、薬物探索行動が抑制されることを確認した。以上の結果は MHCI が薬物依存の持続性を決定する重要な因子であることを示している。

脳における MHCI の役割

MHCI は免疫特権であると考えられていた脳にも発現し、従来の免疫の機能に加え神経細胞特異的な機能を併せ持つことが近年明らかにされた。免疫系において MHCI は抗原ペプチドに結合し、細胞膜表面に提示する。これを T 細胞が認識することで免疫応答が開始される。一方、脳では MHCI は健常状態でも発現し、神経細胞活動依存的に神経細胞結合の削除をおこなう。特に発達期に MHCI は神経回路形成に強く関与する。神経回路形成では一旦過剰な神経細胞結合が形成された後、必要な神経細胞結合以外が削除され、正常な神経回路が形成される。しかし MHCI 欠損型マウスでは神経細胞結合の削除がおこなわれず、過剰な神経細胞結合が成熟した後にも維持される (Huh et al., 2000 Science)。

MHCI 発現の制御機構

MHCI は免疫応答で中心的な役割を担うため、日常生活においても容易に影響を受けるリスクの高い遺伝子である。特に胎児期のウイルス感染は感染した細胞内で直接的に MHCI の発現や機能を阻害し、免疫系を抑制することが知られている (直接経路)。そこで私はウイルスの母胎感染が胎児の脳内感染を引き起こし、ドーパミン神経細胞の MHCI を減少させる可能性を調べた。EGFP たんぱく質を発現するサイトメガロウイルスを母体感染させ、胎児脳に対して CUBIC システムを用いて脳を透明化し、3 次元的に脳をくまなく調べた。その結果、大脳皮質等への感染は確認できたが、ドーパミン神経細胞が存在する中脳への感染は確認できなかった。以上のことからウイルスがドーパミン神経細胞に感染し、MHCI を直接抑制することは難しいと考えられる。しかし MHCI はウイルスによる直接的な発現抑制以外にも、胎児期のウイルス感染等が引き起こす異常な免疫活性化 (母体免疫活性化) によってもその発現が恒久的に影響を受けることが報告されている (間接経路)。従って、本実験でもウイルスがドーパミン神経細胞へ直接感染しなくても、免疫活性化を引き起こし MHCI の発現を間接的に抑制する可能性が考えられる。

2. 研究の目的

以上の知見から、“母体免疫活性化による薬物依存への影響”をドーパミン神経細胞の MHCI に着目し検討する。すなわち、胎児期のマウスにおける免疫活性化が、ドーパミン神経細胞の MHCI の発現を変化させ、薬物依存への脆弱性を引き起こすか調べる。母体免疫活性化は、炎症誘導物質を妊娠マウスに腹腔内投与することで、胎児期の仔マウスの免疫系を活性化させる。母体免疫活性化マウスが成熟した後、ドーパミン神経細胞の MHCI 発現量を調べる。また薬物投与を行い、母体免疫活性化による薬物感受性への影響を調べる。薬物依存ではドーパミン神経細胞への入力神経結合が強まることから、その主原因の一つである。従って、薬物依存を神経回路レベルで評価するため、ドーパミン神経細胞への入力神経結合を電気生理学的手法やスパインの形態解析を用いて評価する。更に薬物依存によって変化するドーパミン系制御遺伝子の発現変化の可能性も調べる。

3. 研究の方法

本研究では胎児期におけるウイルス感染による薬物依存への影響を評価するため、胎児期のウイルス感染による発達障害モデルとして世界的に用いられている母胎免疫活性化モデルを用いた。すなわち、炎症誘発剤である polyinosinic-polycytidylic acid (poly(I:C)) を胎児期に投与した。母体免疫活性化は炎症誘発剤の濃度や投与時期の少しの違いでその効果が大きく変わり得る。従って、本実験で用いた母胎免疫活性化法により生まれた胎児が成獣になった後、従来の報告と同様の行動異常を示すかを調べるために、新規場面における行動量測定、行動量の日内変動、社会行動テスト、プレパルス抑制試験を行った。それぞれの行動試験は注意欠陥多動性障害、自閉症、統合失調症の評価で一般的に用いられている試験である。次に同様の母体免疫活性化法により生まれた胎児が成獣になった後、薬物依存の指標としてよく用いられるコカイン投与による行動感作を測定した。コカイン投与による行動感作の解析ではマウスにコカインを腹腔内投与を行った直後の行動量を測定し、これを7日連続で行う。通常のマウスではコカイン投与の回数が増加するに従い、コカインへの感受性が増加するため行動量も増加する事が知られている。更に2週間の断薬期間後に再度、マウスにコカインを投与し行動量を測定した。通常のマウスでは2週間の断薬期間においてもコカインへの感受性の増加が維持されるため、7日間のコカインの連続投与の最終日と同様の行動量を示す事が知られている。また、行動実験に用いたマウスの凍結保存してある脳を用い、ドーパミン系を中心に様々な脳部位における遺伝子発現の変化を網羅的に解析した。具体的には母体免疫活性化マウスとその対照群からドーパミン系を担う様々な脳部位を切り出し、それ等の試料から mRNA を抽出し、RNA シーケンス解析と定量的 PCR 法により様々な原因遺伝子の候補を調べた。

4. 研究成果

新規場面における行動量測定、行動量の日内変動、社会行動テスト、プレパルス抑制試験を行った。その結果、新規場面における行動量測定、行動量の日内変動、プレパルス抑制試験においてこれまでに報告されている結果と同様の結果を得ることに成功した。一方、社会行動テストではこれまでの報告と異なり、母体免疫活性化による影響は見られなかった。以上の結果から、本研究で用いている母胎免疫活性化法は適切に行われていると考えられる。社会行動テストにおいて、これまでの報告と異なる結果が得られたのは、初めに予想した通り、炎症誘発剤の濃度や投与時期の違いであると考えられる。

次に同様の母体免疫活性化法により生まれた胎児が成獣になった後、薬物依存の指標としてよく用いられるコカイン投与による行動感作を測定した。その結果、コカイン投与による行動感作は母体免疫活性化群とその対照群で差は見られなかった。更に異なる濃度のコカインを用いて行動感作を測定したが同様に差は見られなかった。

最後に上記の行動実験に用いたマウスの凍結保存してある脳を用い、ドーパミン系を中心に様々な脳部位における遺伝子発現の変化を RNA シーケンス解析と定量的 PCR 法により網羅的に解析した。その結果、予測とは異なる種類の MHC1 の発現量に、統計的に有意な増加が確認された。また MHC1 以外にもドーパミン神経の活動に深くかかわる様々な原因遺伝子の候補を見出すことに成功した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Murakami G, Hojo Y, Kato A, Komatsuzaki Y, Horie S, Soma M, Kim J, Kawato S	4. 巻 30
2. 論文標題 Rapid nongenomic modulation by neurosteroids of dendritic spines in the hippocampus: Androgen, oestrogen and corticosteroid	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Neuroendocrinol	6. 最初と最後の頁 12561
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jne.12561	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 -

1. 著者名 Murakami G *(corresponding author), Edamura M, Furukawa T, Kawasaki H, Kosugi I, Fukuda A, Iwashita T, Nakahara D	4. 巻 4
2. 論文標題 MHC class I in dopaminergic neurons suppresses relapse to reward seeking	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 eaap7388
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.aap7388	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Meng Hong-Rui, Suenaga Toshiko, Edamura Mitsuhiro, Fukuda Atsuo, Ishida Yasushi, Nakahara Daiichiro, Murakami Gen	4. 巻 in press
2. 論文標題 Functional MHCI deficiency induces ADHD-like symptoms with increased dopamine D1 receptor expression	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Brain, Behavior, and Immunity	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbi.2021.05.015	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 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Murakami G., Murakoshi T.
2. 発表標題 母胎免疫活性化による発達障害モデルマウスの行動とドーパミン回路の解析
3. 学会等名 日本神経科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 村上 元、中原 大一郎
2. 発表標題 MHC1機能欠損マウスの側坐核 ドーパミンD1受容体の発現量増加がADHD様行動を引き起こす
3. 学会等名 埼玉医科大学RCGMシンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Murakami G., Hirasaki M. and Murakoshi T.
2. 発表標題 母胎免疫活性化による発達障害モデルマウスの遺伝子発現変化の解析
3. 学会等名 日本神経科学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Murakami G *(corresponding author), Kawato S.	4. 発行年 2018年
2. 出版社 Springer Nature	5. 総ページ数 13
3. 書名 Neuro Methods	

〔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