

平成 21 年 6 月 15 日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19790847
 研究課題名（和文）
 精神疾患モデル動物における行動異常と生体イメージングによる神経機能の関連解析
 研究課題名（英文）
 Search for neural function responsible for behavioral abnormality in animal model of psychiatric disorders using in vivo PET imaging
 研究代表者
 服部 聡子 (HATTORI SATOKO)
 独立行政法人放射線医学総合研究所・分子イメージング研究センター・研究員
 研究者番号：00415564

研究成果の概要：

本研究では、行動異常と脳内での神経機能をより直接的に関連づけるアプローチとして、精神疾患モデル動物に対し、動物専用高分解能ポジトロン断層撮影装置(マイクロPET)を用いて生体での神経受容体解析を行った。従来行われている脳組織に対するオートラジオグラフィーで認められた神経伝達物質の受容体結合能異常を、それらの各種受容体に結合する放射性薬剤を用いたマイクロPETにより検出し、神経伝達異常を生体で解析する新たな測定系の開発に成功した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,700,000	0	1,700,000
2008年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	480,000	3,780,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・精神神経科学

キーワード：精神薬理学、精神疾患、生体イメージング、マイクロPET、カルシウム/カルモジユリン依存性プロテインキナーゼ II α

1. 研究開始当初の背景

近年、遺伝子改変や覚醒剤投与を行った動物を用い、精神疾患の病態に関与する生物学的変化の探索が盛んに行われている。これまでに研究代表者は、精神疾患の発症要因と考えられている遺伝または環境要因に着目し、遺伝子改変や環境変化を与えたマウスを用いて、網羅的行動解析によりモデ

ル動物としての妥当性を検討し、行動異常が認められた動物の脳での分子発現・形態変化をin vitroで解析してきた。

そこで本研究では、そのような行動異常と脳内での変化をより直接的に関連づける新たなアプローチとして、動物専用高分解能ポジトロン断層撮影装置(マイクロPET)を用いたin vivoでの解析を試みた。

解析の対象となるモデル動物として、カルシウム/カルモジュリン依存性プロテインキナーゼIIalpha (alphaCaMKII) ヘテロ欠損マウスを用いた。alphaCaMKIIは中枢神経系に豊富に存在するタンパク質リン酸化酵素であり、神経伝達物質受容体をはじめ代謝合成酵素、細胞骨格等のリン酸化を介して神経機能を調節することが知られている。alphaCaMKIIヘテロ欠損マウスでは、

(1) 不安様行動の減少や攻撃行動の亢進(Chen et al., *Science* 1994)

(2) 空間学習の障害(Silva et al., *Curr Biol* 1996)、作業記憶の障害(Yamasaki et al., *Mol Brain*, 2008)

(3) 日内行動量の亢進、数日周期で起こる行動量の増減の波(Yamasaki et al., *Mol Brain*, 2008)

といった精神疾患様の行動異常が報告されている。また、同マウスは縫線核セロトニン作動性ニューロンにおけるセロトニン放出の減少が示唆されており(Chen et al., *Science* 1994)、神経伝達と行動異常の関連性を評価する上で有用である。さらに、alphaCaMKII同様、カルシウム/カルモジュリン依存性の活性を示すホスファターゼ2B(カルシニューリン)の前脳特異的欠損マウスでも、行動量の亢進、プレパルスインヒビションの減弱、作業記憶の障害等の精神疾患様の行動異常が報告されており(Zeng et al., *Cell* 2001, Miyakawa et al., *PNAS* 2003)、カルシウム/カルモジュリンを介したシグナル伝達経路は、精神疾患様行動異常を担うメカニズムの解析を行う上で興味深いターゲットのひとつであると考えられる。

2. 研究の目的

行動異常と脳内での変化をより直接的に関連づけるアプローチとして、動物専用高分解能ポジトロン断層撮影装置(マイクロPET)を用いたin vivoでの解析を試みる。マイクロPETにより、精神疾患モデルマウスの脳を用いて、抗精神病薬、抗うつ薬等の作用点であるドーパミン、セロトニンをはじめとした各種受容体・トランスポーターの発現や脳糖代謝を測定し、異常行動と比較することで、それらの表現型を担う神経機能を同定する新たな系の確立を目的とする。

3. 研究の方法

(1) 行動異常の測定

個飼いにしたalphaCaMKIIヘテロ欠損マウ

スの行動量を、ホームケージモニターを用いて24時間体制で測定し、行動量を解析する。

(2) 脳組織を用いた神経受容体・トランスポーター結合能の測定

alphaCaMKIIヘテロ欠損マウスの脳切片を用いて、in vitroオートラジオグラフィーを行い、脳の各部位における神経受容体・トランスポーター結合能を測定する。これらの実験データに基づき、神経機能異常と行動量変化との相関を解析する。

異常が認められた神経伝達系に関して、その機能を修飾する神経受容体作動薬・阻害薬またはトランスポーターの阻害薬等の投与を行い、行動または機能への影響を解析し、行動異常を担う神経機能を同定する。また異常行動への関与が確認された神経伝達系に関しては、マウス生体でマイクロダイアリシスを実施して神経伝達物質の放出量を測定する。

(3) マイクロPETによる神経機能の測定

各種の受容体(ドーパミンD1・D2受容体、セロトニン5HT_{1A}受容体)・トランスポーター(ドーパミントランスポーター、セロトニントランスポーター)に結合する放射性薬剤や糖代謝のトレーサー([¹⁸F]FDG)を用いて、マイクロPETによるマウス脳のスキャンを実施し、in vivoでの神経機能の変化を測定する。得られた画像解析データを用いて、in vitroオートラジオグラフィーの結果及び行動量異常との相関関係を解析する。

4. 研究成果

本研究では、行動異常と脳内での神経機能・分子発現をより直接的に関連づけるアプローチとして、精神疾患モデル動物に対し、マイクロPETを用いたin vivoでの神経機能解析を試みた。それにより、抗精神病薬、抗うつ薬等の作用点であるドーパミン、セロトニンをはじめとした各種受容体の発現や脳糖代謝を測定し、行動異常を担う神経機能を同定する新たな系が確立されることが期待される。モデル動物には、精神疾患様の行動が報告されているカルシウム/カルモジュリン依存性プロテインキナーゼIIalpha(alphaCaMKII)ヘテロ欠損マウスを用いた。

(1) alphaCaMKIIヘテロ欠損マウスにおける行動異常の計測

ホームケージモニターを用いて、行動量を24時間体制で測定し解析したところ、これまでの報告と一致して(Yamasaki et al., Mol

Brain, 2008)、alphaCaMKIIヘテロ欠損マウスで行動量の増加と数日周期で増減を繰り返す行動量の波が観察された (図1)。

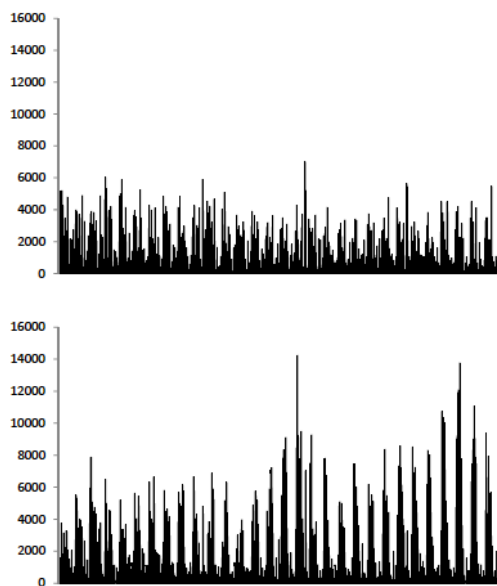


図1. alphaCaMKIIヘテロ欠損マウスのホームケージでの活動量 上段は野生型マウス、下段はヘテロ欠損マウスの活動量。alphaCaMKIIヘテロ欠損マウスでは、活動量の顕著な増加と数日周期の活動量の波が認められた。

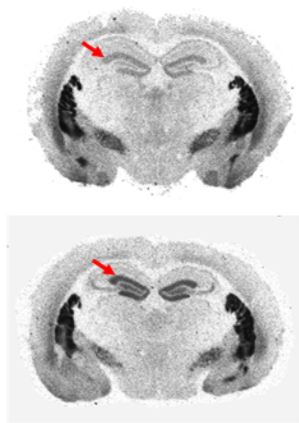


図2. alphaCaMKIIヘテロ欠損マウスの海馬におけるドーパミンD1受容体の結合能 上段は野生型マウス、下段はヘテロ欠損マウスの脳組織を用いたin vitro オートラジオグラフィの結果。alphaCaMKIIヘテロ欠損マウスでは、特に海馬の歯状回 (図中の赤矢印) でD1受容体の結合能の増加が認められた。

(2) 脳組織を用いた神経受容体・トランスポーター結合能の測定

In vitroオートラジオグラフィを用いて神経伝達物質の受容体・トランスポーター結合能を測定した結果、前頭皮質、海馬、扁桃核、縫線核等においてそれらの結合能に異常が認められた。特に、海馬におけるドーパミンD1受容体の結合能の増加 (図2)、セロトニン5HT_{1A}受容体の結合能の低下、及び縫線核におけるセロトニン5HT_{1A}受容体・トランスポーターの結合能の低下が顕著であった。alphaCaMKIIヘテロ欠損マウスでは、このように脳内の複数の部位において顕著な神経伝達系の異常が認められた。

また、(1)で報告した行動量の増加と海馬におけるドーパミンD1受容体の結合能には相関関係が見られた。

(3) マイクロPETによるin vivoでの神経機能の測定

In vitroオートラジオグラフィで異常が認められた神経伝達物質の各種受容体 (ドーパミンD1・D2受容体、セロトニン5HT_{1A}受容体) に結合する放射性薬剤や糖代謝のトレーサー ([¹⁸F]FDG) を用いて、マイクロPETによるマウス脳のスキャンを行った。その結果、マイクロPETでも同様に海馬におけるセロトニン5HT_{1A}受容体の結合能の低下を検出することができた。糖代謝は特に顕著な変化は認められなかった。

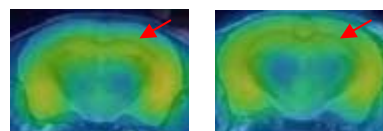


図3. alphaCaMKIIヘテロ欠損マウスの海馬におけるセロトニン5HT_{1A}受容体の結合能 左図は野生型マウス、右図はヘテロ欠損マウスを用いたin vivo マイクロPETの結果。alphaCaMKIIヘテロ欠損マウスでは、in vitro オートラジオグラフィの結果と同様、海馬において (図中の赤矢印) セロトニン5HT_{1A}受容体の結合能の低下が認められた。

また従来行っていた麻醉下でのスキャンに加え、覚醒下や神経受容体の作動薬等の薬物負荷を行ったマウスでのPETスキャンを行い、神経伝達の異常をin vivoにて検出する新たな測定系の開発に成功した。これにより、行動実験と同様の覚醒下での神経機能を測定し、より厳密に両者の相関関係を調べることができる。また、神経受容体作動薬/阻害薬等の負荷により神経伝達機能を亢進/抑制

させ、それらの行動異常や神経機能変化への影響を解析することで、行動異常を担う神経機能の確定することが可能である。今後、これらの画像データを定量解析し、精神疾患様の行動異常の1つである自発活動量の異常との相関関係を分析する予定である

このような遺伝子改変マウスを用いたin vivo神経機能解析は、国内外でもほとんどなされておらず、今後さらなる発展が期待される。

5. 主な発表論文等

[その他]

ホームページ等

<http://www.nirs.go.jp/seika/brain/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

服部 聡子 (HATTORI SATOKO)

独立行政法人放射線医学総合研究所・分子

イメージング研究センター・研究員

研究者番号：00415564