

令和 5 年 6 月 27 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K16494

研究課題名（和文）ストリオソーム神経細胞選択的な遺伝子操作マウスを用いた神経変性疾患の病態機序解明

研究課題名（英文）Genetic manipulation of striosome neurons to study the pathomechanisms of neurodegenerative diseases in mice

研究代表者

奥宮 太郎 (Okunomiya, Taro)

京都大学・医学研究科・助教

研究者番号：60868256

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：哺乳類線条体は脳基底核の主要な入力核であり、島状に分布するストリオソーム区画とその周囲のマトリックス区画で構成される。線条体ストリオソーム区画神経細胞の機能は個体における運動とその変容に関連することが示唆されているが、メカニズムは十分には解明されていない。本研究では、線条体ストリオソーム神経細胞の遺伝子操作を可能とするMOR-CreERマウスへのウイルスベクター脳内局所注入により、線条体ストリオソーム区画細胞に人工受容体を発現させ、薬理遺伝学的手法により、ストリオソーム神経細胞活動を人為的に操作した。結果として、マウス個体における線条体神経細胞機能と運動についての関係の一部を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

マウス個体の線条体ストリオソーム神経細胞活動を人為的に制御できるマウスモデルを開発した。個体の片側線条体ストリオソームの神経活動操作による運動変化は、これまでの脳基底核回路モデルでは説明できなかった。本研究の結果は、ストリオソーム神経細胞特異的な運動制御のメカニズムの一端を明らかにし、ジストニア等の運動異常症の発症機序の理解に役立つ可能性がある。

研究成果の概要（英文）：The mammalian striatum is the major input nucleus of the basal ganglia and composed of two anatomical structures: the island-like striosome compartment and the surrounding matrix compartment. This compartmentalized structure has been suggested to be related to the motor control and its abnormalities, but the mechanisms remain to be elucidated. In this study, we chemogenetically manipulated striosome neuronal activity by injecting Cre-dependent virus vector into the striatum of the MOR-CreER mice, which allowed genetic manipulation of striosomal mu opioid receptor-expressing cells. Our results revealed a relationship between striatal neural function and locomotion in mice.

研究分野：神経科学

キーワード：線条体 ストリオソーム μ オピオイド受容体 運動制御 DREADD 病態モデル 脳基底核 ジストニア

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

線条体は脳基底核の主要な入力核であり、哺乳類では島状に分布するストリオソーム区画とその周囲のマトリックス区画で構成される。運動異常症をきたす各種神経変性疾患において、線条体ストリオソーム構造における神経細胞死や機能異常が報告されているが、そのメカニズムには十分に解明されていない。線条体ストリオソーム区画における神経細胞の機能と運動、その変容の解明には、動物モデルを用いたストリオソーム選択的な遺伝子操作が強力な手段となる。しかし、ストリオソームは線条体に迷路のように入り組んだ構造をとるため、選択的な遺伝子導入は従来困難であった。

この課題を解決するため、私達はこれまで、線条体ストリオソームに μ オピオイド受容体(MOR)が強く発現していることを利用し、MOR 遺伝子プロモーター下にタモキシフェン誘導 Cre レコンビナーゼを発現する MOR-CreER マウスを作製し(Okunomiya, Watanabe et al., *Genesis*, 2020)、当該マウスの線条体へのウイルスベクター局所注入と Cre 組換え活性誘導により、線条体ストリオソーム神経細胞特異的な遺伝子発現制御を個体レベルで可能にするシステムを構築した。

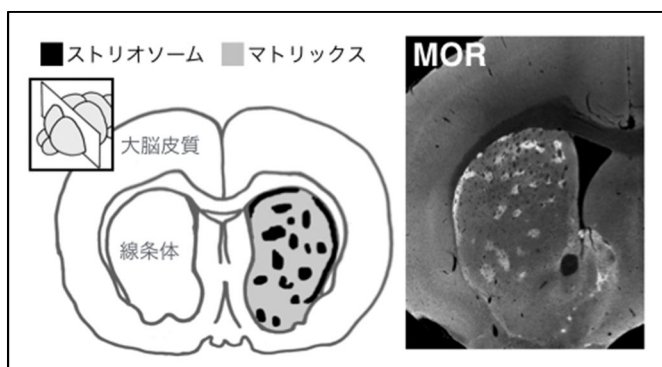


図 本研究で対象としたマウス線条体区画構造の模式図 (MOR: 線条体ストリオソームに強く発現する μ オピオイド受容体)

2. 研究の目的

本研究の目的は、MOR-CreER マウスへのウイルスベクター脳内局所注入を用いて、ストリオソーム神経細胞特異的に遺伝子導入したマウスモデルを作製し解析することにより、線条体ストリオソーム区画神経細胞と個体における運動とその変容との関連を検証することである。

3. 研究の方法

(1) MOR-CreER マウス線条体へ Cre 依存的に遺伝子発現するアデノ随伴ウイルス (AAV) を注入し、タモキシフェンを連続投与することで、MOR 発現細胞に遺伝子導入した。蛍光タンパク質および人工受容体 designer receptors exclusively activated by designer drugs (DREADD) を発現させて、特異的なリガンドを投与することにより、線条体ストリオソーム神経細胞活動を人為的に操作した。

(2) 行動解析試験を用いてマウスの自発行動を評価した。

(3) 遺伝子導入された細胞群の特徴を免疫組織化学および in situ hybridization 法により組織学的に評価した。

4. 研究成果

(1) MOR 細胞選択的な神経活動操作

MOR 発現細胞に DREADD を選択的に遺伝子導入した。DREADD による神経活動活性化は、線条体ストリオソーム区画選択的に生じていた。

(2) 自発行動解析

マウス行動解析において、溶媒投与と比較した人為的神経活動活性化後の自発運動の変容を評価した。

(3) 組織学的解析

MOR-CreER マウスにより遺伝子導入された細胞のドパミン受容体サブタイプを明らかにした。

マウス線条体ストリオソームの MOR 発現細胞を DREADD により人為的に活性化させることにより、マウスの運動行動の変容を解析した。直接路細胞は脳基底核の伝統的なモデルにおいては

大脳皮質の興奮性を上昇させるとされており(Alexander and Crutcher, *Trends Neurosci* 1990)。実際、マウスにおいて直接路細胞を刺激すると、両側刺激では運動量を増加させ、片側刺激では刺激側と対側へ顕著に回転させる(Kravitz et al., *Nature* 2010; Alcacer et al., *J Clin Invest* 2017)。本研究においては、遺伝子導入された細胞のドパミン受容体サブタイプを明らかにした。従来の線条体直接路の非選択的な刺激と本研究の運動表現型の解析結果からは、線条体の運動制御における機能的役割を理解するためには直接路・間接路の伝統的な分類に加えて、さらに遺伝学的に分類して解析する必要性を示唆した。今後、線条体ストリオソーム神経細胞活動と運動異常症の関連について、解析を発展させる。

<引用文献>

Okunomiya T et al., Generation of a MOR-CreER knock-in mouse line to study cells and neural circuits involved in mu opioid receptor signaling. *Genesis*, 2020;58(1):e23341
Alexander GE and Crutcher M, Functional architecture of basal ganglia circuits: neural substrates of parallel processing. *Trends in Neurosciences*, 1990;13(7):266-71.
Kravitz AV et al., Regulation of parkinsonian motor behaviours by optogenetic control of basal ganglia circuitry. *Nature*, 2010;466(7306):622-6.
Alcacer C, Andreoli L, Sebastianutto I, Jakobsson J, Fieblinger T, Cenci MA, Chemogenetic stimulation of striatal projection neurons modulates responses to Parkinson's disease therapy. *The Journal of Clinical Investigation*, 2017;127(2):720-34.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 1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 Kondo T, Banno H, Okunomiya T, Amino Y, Endo K, Nakakura A, Uozumi R, Kinoshita A, Tada H, Morita S, Ishikawa H, Shindo A, Yasuda K, Taruno Y, Maki T, Suehiro T, Mori K, Ikeda M, Fujita K, Izumi Y, Kanemaru K, Ishii K, Shigenobu K, Kutoku Y, Sunada Y, Kawakatsu S, Shiota S, Watanabe T, Uchikawa O, Takahashi R, Tomimoto H, Inoue H | 4. 巻 11 |
| 2. 論文標題 Repurposing bromocriptine for Aβ metabolism in Alzheimer's disease (REBRAnD) study: randomised placebo-controlled double-blind comparative trial and open-label extension trial to investigate the safety and efficacy of bromocriptine in Alzheimer's disease with presenilin 1 (PSEN1) mutations | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 BMJ Open | 6. 最初と最後の頁 e051343 ~ e051343 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1136/bmjopen-2021-051343 | 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 奥宮太郎、坂野晴彦、井上治久 | 4. 巻 11 |
| 2. 論文標題 iPS細胞技術を用いたアルツハイマー病研究 | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 認知症の最新医療 | 6. 最初と最後の頁 30~36 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし | 査読の有無 無 |
| 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 奥宮太郎、坂野晴彦、井上治久 | 4. 巻 - |
| 2. 論文標題 疾患特異的iPS細胞 | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 別冊・医学のあゆみ 神経変性疾患の治療開発の現状 新たな戦略構築の基盤をめざして | 6. 最初と最後の頁 111~118 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし | 査読の有無 無 |
| 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 坂野晴彦、奥宮太郎、井上治久 | 4. 巻 - |
| 2. 論文標題 神経変性疾患に対するiPS創薬と臨床試験 | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 別冊・医学のあゆみ 再生医療はどこまで進んだか | 6. 最初と最後の頁 99~106 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし | 査読の有無 無 |
| 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 坂野晴彦、奥宮太郎、井上治久 | 4. 巻 31 |
| 2. 論文標題 iPS細胞を用いた創薬 | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 クリーンテクノロジー | 6. 最初と最後の頁 47-52 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし | 査読の有無 無 |
| 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 奥宮太郎、坂野晴彦、井上治久 | 4. 巻 32 |
| 2. 論文標題 iPS細胞を用いた認知症疾患修飾薬の開発 | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 老年精神医学雑誌 | 6. 最初と最後の頁 1191-1201 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし | 査読の有無 無 |
| 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4件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

| |
|---|
| 1. 発表者名 奥宮 太郎, 日置 寛之, 西村 知華, 矢和多 智, 今吉 格, 影山 龍一郎, 高橋 良輔, 渡邊 大 |
| 2. 発表標題 Generation of an inducible Cre mouse line MOR-CreER to study mu opioid receptor-expressing neurons |
| 3. 学会等名 第62回日本神経学会学術大会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 坂野 晴彦, 近藤 孝之, 奥宮 太郎, 網野 祥子, 魚住 龍史, 森田 智視, 新堂 晃大, 眞木 崇州, 池田 学, 和泉 唯信, 金丸 和富, 石井 賢二, 釜江 和恵, 砂田 芳秀, 川勝 忍, 渡邊 敏文, 内川 治, 高橋 良輔, 富本 秀和, 井上 治久 |
| 2. 発表標題 プレセニン1変異アルツハイマー病に対するプロモクリプチンの臨床試験プロトコル |
| 3. 学会等名 第62回日本神経学会学術大会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 坂野 晴彦, 近藤 孝之, 奥宮 太郎, 新堂 晃大, 眞木 崇州, 池田 学, 金丸 和富, 釜江 和恵, 渡邊 敏文, 内川 治, 冨本 秀和, 井上 治久 |
| 2. 発表標題 プレセニリン1変異アルツハイマー病に対するプロモクリプチンの医師主導治験プロトコル |
| 3. 学会等名 第42回日本臨床薬理学会学術総会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Haruhiko Banno, Takayuki Kondo, Taro Okunomiya, Yoko Amino, Akiyoshi Nakakura, Ryuji Uozumi, Harue Tada, Akihiro Shindo, Takakuni Maki, Manabu Ikeda, Yuishin Izumi, Kazutomi Kanemaru, Kenji Ishii, Kazue Shigenobu, Yoshihide Sunada, Toshifumi Watanabe, Osamu Uchikawa, Ryosuke Takahashi, Hidekazu Tomimoto, Haruhisa Inoue |
| 2. 発表標題 Clinical Trial Protocol of Bromocriptine in Alzheimer ' s Disease with Presenilin 1 (PSEN1) Mutations |
| 3. 学会等名 Clinical Trials on Alzheimer ' s Disease (CTAD) 2021 (国際学会) |
| 4. 発表年 2021年 |

〔図書〕 計2件

| | |
|----------------------------------|-----------------|
| 1. 著者名 公益社団法人 日本薬学会 | 4. 発行年 2021年 |
| 2. 出版社 薬事日報社 | 5. 総ページ数 382 |
| 3. 書名 THE 創薬 -少資源国家にっぽんの生きる道- | |

| | |
|----------------------------|-----------------|
| 1. 著者名 池田 学, 神庭重信, 松下正明 | 4. 発行年 2023年 |
| 2. 出版社 中山書店 | 5. 総ページ数 584 |
| 3. 書名 神経認知障害群 | |

〔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 |
|---------|---------|