

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 8 月 17 日現在

機関番号：32305

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26460317

研究課題名(和文) CIN85異常による疾患の確立：多動症、育児放棄、精神遅滞の病態と分子変異の解析

研究課題名(英文) Establishment of disease due to CIN85 abnormality: Analysis of pathology and molecular variation of hyperactivity, maternal neglect and mental retardation

研究代表者

下川 哲昭 (Shimokawa, Noriaki)

高崎健康福祉大学・健康福祉学部・教授

研究者番号：90235680

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：CIN85は膜受容体のエンドサイトーシスに関与する。そのノックアウトマウス(CIN85 KO)が示す育児放棄の原因として胎児期(子宮内)環境を解析した。CIN85 KOの卵管に移植したWTの胚由来の仔は育児放棄様行動を示した。一方、WTの卵管に移植したKOの胚由来の仔は正常な育児行動を示した。CIN85 KOの周産期における血中PRL濃度を測定したところWTと比べ低下していた。妊娠KOへのPRL投与は、仔の育児行動を回復させ育児神経回路のc-Fos発現を有意に上昇させた。以上の結果から、育児行動は胎児期の脳内環境、特に妊娠母体からの適正なPRLシグナルが決定的な役割を担うことを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：CIN85 is involved in the regulation of receptor endocytosis. Mice deficient of CIN85 expression show maternal neglect. When wildtype (WT) embryos were transplanted into the fallopian tubes of CIN85 knockout (KO) mice, they also demonstrated inhibited nurturing behavior as adults. Conversely, when KO embryos were transplanted into the fallopian tubes of WT mice, the resultant pups exhibited normal nurturing behaviors. We detected decreased prolactin (PRL) levels in KO compared to WT mice. PRL injection in KO mice during pregnancy could partially rescue the defect in maternal behavior of the next generation. This correlates with our findings that neural circuitry associated with nurturing behaviors was less active in pups born to KO mothers, but PRL administration to mothers restored neural activity to normal levels. Our findings indicate an important role of CIN85 in the regulation of the PRL system in the brain and provide new insight into a molecular explanation for maternal behavior.

研究分野：神経内分泌学、環境生理学

キーワード：育児行動 脳内環境 胎児期環境 ドパミン-プロラクチン シグナル CIN85

## 1. 研究開始当初の背景

本申請者らは上皮増殖因子 (epidermal growth factor; EGF) の刺激後、EGF 受容体が細胞膜上から細胞内へと取り込まれ、膜タンパク質の Downregulation (機能発現低下) の秩序維持機構に CIN85 (Cbl-interacting protein of 85 kD) が関与している新しいメカニズムを報告した。 (Haglund, Shimokawa *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002)。

この分子の個体での意義を明らかにする目的で、CIN85 ノックアウト (KO) マウスを作製した。この CIN85 KO マウスは「多動性」と「育児放棄」の表現型を示した。多動性の原因は CIN85 欠損による脳線条体ドパミン受容体のエンドサイトーシスの破綻がドパミン刺激の過剰を招き多動を誘発していることを明らかにした (Shimokawa, Haglund *et al.*, *EMBO J.*, 2010)。しかしながら、育児放棄に関しては未だその原因が同定されていなかった。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、「育児放棄」の原因を同定し育児行動の発現メカニズムを解析することにある。

## 3. 研究の方法

(1) 育児放棄様行動の母親 (CIN85 KO) によって死亡したすべてのマウスの胃にはミルクが確認できなかったことから、母親の乳腺を whole mount 染色と casein の発現を指標に調べた。

(2) 胎仔期環境の違いによる育児行動の獲得を解析するため胚の交換移植を行った。CIN85 KO の卵管に野生型 (WT) の胚を移植、反対に WT の卵管に CIN85 KO の胚を移植し、誕生した仔は成熟後、交配・分娩させ育児行動を観察した。

(3) 胎仔期における母体からの PRL の影響を検討するために、妊娠後期から出産まで毎日 1 日 2 回 PRL 70 ng/g・マウス体重を投与した。出生後 10 週で雌の産仔を交配し、出産後の育児行動を観察した。

(4) 育児行動の神経回路である視床下部内側視索前野 (MOPA) から側坐核 (NA) を介して後腹側核 (VP) の神経活動を c-Fos 発現を指標として評価した。

## 4. 研究成果

(1) CIN85 KO の母親における乳腺の構造とミルクの産生能は WT と違いはなかった。

(2) KO の卵管に移植した WT の胚由来の仔は成熟後、WT であるにもかかわらず強い育児放棄様行動を示した。一方、WT の卵管に移植した KO の胚由来の仔は成熟後、正常な育児行動を示した。これらの結果より胎仔期環境が将来の育児行動の発現の有無を決定している可能性が示された。

(3) 周産期における血中 PRL 濃度を測定した

ところ、KO では WT と比べ出産直後に有意に低下していることが分かった。そこで妊娠後期の KO に PRL を投与したところ、その母親から産まれた KO の仔の育児行動は WT と同程度に回復した。

(4) さらに PRL 投与により、育児行動の神経回路の c-Fos 発現は有意に上昇していた。

以上の結果より、将来の育児行動の発現は胎児期に既にその方向性が決定されていて、胎児期の脳内環境、特に母体からの適正なドパミン-PRL シグナルが決定的な役割を担うことを明らかにした。

## 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 11 件)

1. Srour M, Shimokawa N, Hamdan FF, Nassif C, Poulin C, Al Gazali L, Rosenfeld JA, Koibuchi N, Rouleau GA, Al Shamsi A, Michaud JL.

Dysfunction of the cerebral glucose transporter SLC45A1 in individuals with intellectual disability and epilepsy. *Am J Hum Genet.* 2017;100(5):824-830. doi: 10.1016/j.ajhg.2017.03.009. 査読有

2. Lesmana R, Iwasaki T, Iizuka Y, Amano I, Shimokawa N, Koibuchi N.

The change in thyroid hormone signaling by altered training intensity in male rat skeletal muscle. *Endocr J.* 63, 727-738, 2016. doi: 10.1507/endocrj.EJ16-0126. 査読有

3. Vargas D, Shimokawa N, Kaneko R, Rosales W, Parra A, Castellanos A, Koibuchi N, Lizcano F.

Regulation of human subcutaneous adipocyte differentiation by EID1. *J. Mol. Endocrinol.* 56, 113-122, 2016. doi: 10.1530/JME-15-0148. 査読有

4. Tsunoda D, Iizuka H, Ichinose T, Iizuka Y, Mieda T, Shimokawa N, Takagishi K, Koibuchi N.

The *Trk* family of neurotrophin receptors is downregulated in the lumbar spines of rats with congenital kyphoscoliosis. *Mol. Cell. Biochem.* 412, 11-18, 2016. doi: 10.1007/s11010-015-2603-z. 査読有

5. Shimokawa N.

Significance of CIN85 analysis in nutritional study. *J. Nutr. Biol.* 1, 1-6, 2015. doi: http://dx.doi.org/10.18314/jnb.v1i1.25. 査読有

6. Yu L, Iwasaki T, Xu M, Lesmana R, Xiong Y, Shimokawa N, Chin WW, Koibuchi N. Abberant cerebellar development of transgenic mice expressing dominant-negative thyroid hoemone receptor in cerebellar Purkinje cells. *Endocrinology* 156, 1565-1576, 2015. doi: 10.1210/en.2014-1079. 査読有

7. Toya S, Takatsuru Y, Amano I, Shimokawa N, Koibuchi N. Early-life-stress affects the homeostasis of glutamatergic synapses. *E. J. Neurosci.* 40, 3627-3634, 2014. doi: 10.1111/ejn.12728. 査読有

8. Shimokawa N, Yousefi B, Morioka S, Yamaguchi S, Ohsawa A, Hayashi H, Azuma A, Mizuno H, Furudate S, Haijima A, Takatsuru Y, Iwasaki T, Umezu M, Koibuchi N. Altered cerebellum development and dopamine distribution in a rat genetic model with congenital hypothyroidism. *J. Neuroendocrinol.* 26, 164-175, 2014. doi: 10.1111/jne.12135. 査読有

9. 角田大介、下川哲昭、飯塚伯、鯉淵典之、高岸憲二  
先天性脊柱側弯症モデルラットにおける遺伝子発現の網羅的解析。  
*J. Spine Res.* 6, 157-160, 2015. <http://iss.ndl.go.jp/books/R100000002-I000010637091-00>. 査読有

10. Ichinose T, Lesmana R, Yamamoto A, Kobayashi T, Shitara F, Shimoyama D, Yusuke Takatsuru Y, Iwasaki T, Shimokawa T, Takagishi K, Koibuchi N. Possible involvement of IGF-1 signaling on compensatory growth of the infraspinatus muscle induced by the supraspinatus tendon detachment of rat shoulder. *Physiological Report* 2, e00197, doi: 10.1002/phy2.197, 2014. 査読有

11. Lesmana R, Shimokawa N, Takatsuru Y, Iwasaki T, Koibuchi N. Lactational exposure to hydroxylated polychlorinated biphenyl (OH-PCB 106) causes hyperactivity in male rat pups by aberrant increase in dopamine and its receptor. *Environ. Toxicol.* 29, 876-883, 2014. doi: 10.1002/tox.21815. 査読有

[学会発表] (計 3 件)

1. Shimokawa N, Sairenji T, Masuda S, Koibuchi N. Lack of CIN85 in the brain causes

impairment of maternal behaviour in mice. Physiology 2016  
July 29-31, 2016, Dublin, Ireland

2. Shimokawa N, Sairenji T, Koibuchi N. Impairment of maternal behaviour by aberrant dopamine-prolactin signal. EBPS and EBBS Joint Meeting  
September 12-15, 2015, Verona, Italy

3. Shimokawa N, Sairenji T, Kaneko R, Koibuchi N. Lack of CIN85 causes impairment of maternal behaviour. 16th Congress of the European Neuroendocrine Association  
September 10-13, 2014, Sofia, Bulgaria

[図書] (計 6 件)

1. Shimokawa N, Koibuchi N. Animal models to study thyroid hormone action in neurodevelopment. In: Thyroid Hormone Disruption and Neurodevelopment (Eds.: N. Koibuchi and P.M. Yen), pp.155-170, 2017, Springer, New York.

2. 下川哲昭  
CIN85, Thyroid Hormone 「脳内環境辞典」(高橋、山中、樋口、漆谷 編集) pp.106-107, 136-137, 2017, メディカルドゥ社, 大阪.

3. 下川哲昭  
脳内環境の破綻と神経・精神異常の発生メカニズムの解析-「多動症」や「育児放棄」への一考察「こころの発達と病気」 pp.63-89, 2016, 脳の世紀推進会議編 東京.

4. Shimokawa N, Koibuchi N. Downregulation of receptor tyrosine kinases through ubiquitination: analysis by Immunodetection. In: Receptor Tyrosine Kinase (Ed.: Germano), pp.121-133, 2015, Springer, New York.

5. 下川哲昭  
「リッピンコット イラストレーテッド生理学」: 女性および男性の性腺、妊娠と出産 (栗原、鯉淵 監訳、下川監訳補助), pp.513-543, 2014, 丸善, 東京.

6. 下川哲昭  
「生理学問題集」: 日本生理学会教育委員会編, 2015, 文光堂, 東京.

6. 研究組織

(1)研究代表者

下川哲昭 (Shimokawa Noriaki)  
高崎健康福祉大学・健康福祉学部・教授  
研究者番号：90235680

(2)研究分担者

鯉淵典之 (Koibuchi Noriyuki)  
群馬大学・大学院医学系研究科・教授  
研究者番号：80234681