

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 19 日現在

機関番号：32669

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26870625

研究課題名(和文) 脳内モノアミンオキシダーゼ調節因子の機能異常による情動、社会性障害発症機構の解明

研究課題名(英文) Elucidation of the pathogenic mechanisms that underlie emotional disorder in dysfunction of brain monoamine oxidase regulator

研究代表者

榊山 実幸 (Kabayama, Miyuki)

日本獣医生命科学大学・獣医学部・助教

研究者番号：70415115

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：モノアミンオキシダーゼ(MAO)による迅速なモノアミンの代謝分解が、脳高次機能発現に必須であり、その破綻は様々な脳神経疾患を誘発する。申請者は、ユビキチンリガーゼRinesがMAO蛋白質のユビキチン化と分解を促進し、マウス脳におけるMAO蛋白質量の調節を介してモノアミン量および情動と社会性行動を制御することを報告していた。本研究では、脳高次機能発現における、RinesによるMAO蛋白質の分解とそれに伴うモノアミン動態制御機構を解明するため、若齢～高齢Rines欠損マウスを用いて検討した結果、Rines欠損マウスは、週齢依存的に異なった行動表現型およびモノアミン動態変化を示すことを発見した。

研究成果の概要(英文)：Monoamine oxidase A (MAO-A), the catabolic enzyme of monoamine transmitters, plays a critical role in emotional and social behavior. MAO-A has long been considered to be a central factor at the interface of psychiatry and pharmacology. We previously reported that E3 ubiquitin ligase Rines regulates brain MAO-A protein levels, monoamine levels and emotional and social behavior. In this study, we investigate how Rines regulates MAO-A protein levels and monoamine levels in emotional and social behavior using juvenile-aged Rines KO mice. Here we found that Rines regulates monoaminergic dynamics and emotional behavior in age-dependent manner.

研究分野：脳神経科学

キーワード：情動行動 モノアミンオキシダーゼ ユビキチンリガーゼ

1. 研究開始当初の背景

ノルアドレナリン(NE)、セロトニン(5-HT)、ドーパミン(DA)などのモノアミン系神経伝達物質は、情動および社会性行動、ストレス反応等の様々な行動の制御に重要な役割がある。

モノアミンオキシダーゼ(MAO)は、モノアミンの代謝分解を促進し、モノアミン量の迅速で適切な調節と、それによる適切な脳高次機能発現制御を行うため特に注目されている。また、MAO-A 阻害薬は、うつ病などの治療に長年使用されており、PTSD やパニック障害の患者にも有用である。

MAO-A 欠損マウスでは、各種脳部位のモノアミン量が増加し、情動記憶の亢進、攻撃性の増加などの情動異常が見られる(*Annu. Rev. Neurosci.*1999. 22, 197-)。ヒトにおいても MAO-A 遺伝子変異患者が、Brunner 症候群と呼ばれる反社会的行動や攻撃性を示す(*Science*.2002.297,851-)。

逆に MAO-A 量が多いと、抑うつ、不安の傾向が高くなる。一方で、MAO によるモノアミン代謝亢進は細胞内における活性酸素の増加を伴い、その結果、酸化ストレスが生じ、神経変性および神経細胞死を引き起こし、パーキンソン氏病、アルツハイマー病等の神経変性疾患の発症に関わっている(*J.Neural. Transm.*2006.113,645-)。臨床的にも MAO 阻害剤はパーキンソン氏病の治療薬として広く用いられ、アルツハイマー病の治療薬としても幾つかの製薬会社による治験が進行中である。

つまり、MAO 蛋白質量の迅速かつ厳密な制御が、脳高次機能発現に必須であることが示されているが、MAO 蛋白質量の制御機構、特に分解機構についてはこれまで報告がなかった。

申請者はこれまでに、1) ユビキチンリガーゼ Rines が MAO 蛋白質のユビキチン化と分解を促進し、マウス脳における MAO 蛋白質量の調節を介してモノアミン量を制御すること、2) Rines 欠損マウスを用いて、MAOA 分解機構の破綻が、ストレスに対する、情動および社会性行動とモノアミン反応性の異常を誘導することを報告した。これらの Rines 欠損マウスで見られる神経化学的および行動学的変化は、ヒトおよびマウスの MAO-A

欠損と反対の表現型であり、MAO-A 過剰の表現型とは一致する。

2. 研究の目的

脳内のモノアミン量は、環境の変化などのストレス刺激や発育、加齢などに対応して、常に変化している。そこで本研究では、週齢ごとのモノアミンの変化や、マイクロダイアリシス法を用いて、ストレス刺激や行動解析中のモノアミンの継時的変化をリアルタイムに検討することにより、いつ、どこで、どのような刺激で Rines による MAO の分解促進もしくは抑制が誘発されるか、またそれに伴って生じるモノアミン量の変化が、情動行動等の脳高次機能および神経変性疾患発症にどのように関わっているかを検討する。これにより、不安、ストレス障害等の情動障害、攻撃性等の行為障害さらには神経変性疾患の分子発症機序を、Rines による MAO 蛋白質分解とそれに伴うモノアミン量の制御の観点から解明する。

3. 研究の方法

1) 行動学的解析

若齢から高齢 Rines 欠損マウスを用いて、情動行動、ストレス反応性、記憶学習、社会性、運動機能などを検査する一連の行動学的解析を行い、比較検討した。行動解析項目として、オープンフィールド試験、高架式十字迷路試験、受動的回避試験、強制水泳試験、モーリス水迷路試験、ロータロッド試験、ホットプレート、テイルフリック痛覚試験、聴覚試験、社会性試験(社会相互試験、居住者-侵入者試験)などを行った。

2) HPLC を用いたモノアミン量の測定

若齢から高齢 Rines 欠損マウスの Rines 欠損マウスの脳の各部位で、モノアミン量を検討した。脳の凍結切片から生検パンチャーを用いて、1-2 マイクロメートルの円形組織として、切り出した。

3) マイクロダイアリシス法

本手法では、1-2mm の半透膜でできたカニューレ(プローブ)を特定脳部位に留置して人工脳脊髄液を還流させる。半透膜を通過

した際に、液中に透析されたモノアミンを経時的に回収して HPLC で定量解析を行い、モノアミン動態を観察した。

4. 研究成果

Rines 欠損マウスの、ストレスや環境による行動の反応性の違いを検討するため、若齢から高齢の、週齢の異なる Rines 欠損マウスの行動、およびモノアミン動態を比較検討した。その結果、若齢および高齢 Rines 欠損マウスにおいて、週齢によって異なった行動表現型を示し、モノアミンの動態の変化も週齢によって異なることを明らかにした。

さらに、マイクロダイアリシスによる線条体での行動中のリアルタイムのモノアミン動態を測定した結果、Rines 変異マウスでは野生型とは異なるモノアミン放出を示し、週齢によってもそれが変動することを明らかにした。また、モノアミン作動性薬剤の投与においても、Rines 欠損マウスは、野生型と異なる反応性を示すことがわかった。

MAO-A 量の低下で見られる攻撃性が幼児期の虐待などのストレスによって悪化することも知られている。したがって本研究での若齢期の Rines 欠損マウスでの行動やモノアミン制御機序を解明することは、情動だけでなく行為障害などの発症機序の解明に寄与できると考えられる。さらに、MAO-A の過剰発現は、神経変性疾患に関与することが報告されているため、本研究は、神経変性疾患の発症機序の解明にも貢献できる可能性がある。

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 0 件)

[学会発表](計 1 件)

招待講演者: 樺山実幸

情動、社会性行動の新たな分子制御メカニズム「マウスの行動学的解析からのアプローチ」

第87回 実験動物コンファレンス
(2014年4月26日 東京)

[図書](計 1 件)

Labio21(共著)

特集: 実験動物を用いた行動学的解析
「情動、社会性行動発現の新たな分子制御メカニズム: マウスの行動学的解析からのアプローチ」

著者: 樺山実幸

日本実験動物協会 発行

2014 年発行 (p6-9, 4 ページ)

[産業財産権]

○出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

樺山 実幸(KABAYAMA MIYUKI)

日本獣医生命科学大学 獣医学部獣医学科 基礎獣医学部門 形態機能学分野

助教

研究者番号: 70415115

(2)研究分担者
()

研究者番号:

(3)連携研究者
()

研究者番号: