

## 研究課題別事後評価結果

### 1. 研究課題名：ドーパミンによる行動の発達と発現の制御機構

### 2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名(研究機関名・職名は研究参加期間終了時点)

研究代表者

小林 和人(福島県立医科大学 医学部附属 生体情報伝達研究所 教授)

主たる共同研究者

高田 昌彦(京都大学 霊長類研究所分子生理研究部門 教授)

宮地 重弘(京都大学 霊長類研究所行動神経研究部門 行動発現分野 准教授)

初山 俊彦(東京慈恵会医科大学 医学部 薬理学講座 教授)

那波 宏之(新潟大学 脳研究所分子神経生物学分野 教授)

曾良 一郎(東北大学 大学院医学系研究科 神経・感覚器病態学講座 教授)

### 3. 研究実施概要

ドーパミン神経系は大腦皮質前頭前野と大腦基底核をめぐる神経回路の機能調節を介して行動の発現や組織化を制御する。ドーパミン神経系の活動は発育期の脳に影響し、行動の学習や発達制御に極めて重要な役割を担い、この回路異常は統合失調症や注意欠陥多動性障害(ADHD)などの発達障害に結びつくことが知られている。本研究では、先端的な遺伝子改変技術を利用し、げっ歯類から霊長類(サル)までを対象とした総合的研究をとおして、ドーパミンによる行動の発達と制御の神経機構およびドーパミン神経とそれに依存する神経回路の形成と発達の分子機構の解明に取り組んだ。

これまでに得られた主要な成果は以下のようにまとめられる。

- ① 小林グループは、イムノキシン細胞標的法を中心とした最先端の遺伝子改変技術により、ドーパミン神経伝達に依存し、行動を制御する神経回路の仕組みの解明、特に、中脳ドーパミン系が主要な役割を持ち、前頭皮質、線条体、側坐核が関与する運動や学習の制御を制御する神経回路の機構の解明に取り組んだ。また、イムノキシン細胞標的法を発展させ、特定ニューロンタイプの神経伝達を一過性に抑制するための新しい遺伝子改変技術(イムノテタヌストキシン伝達抑制法)を開発し、線条体投射路の機能解析に応用した。さらに、霊長類の脳神経回路の研究に発展させるために、高頻度な逆行性輸送を示す新規レンチウイルスベクター系を世界に先駆けて開発し、これを応用した特定神経回路の機能解析技術へ発展させた。このベクター系は、げっ歯類および霊長類においてドーパミン系が関連し、行動制御に重要な役割を担う神経ネットワークの仕組みの解明に有益なことを示した。
- ② 高田グループは、小林グループと連携して優れた逆行性輸送能を有するレンチウイルスベクターを開発し、それを用いたサル脳への遺伝子導入を行い、イムノキシン神経路標的法を確立した。また、サル脳内に正確なベクター注入を行うため、MRI ナビゲーションシステムを利用したベクター注入技術を開発した。これらの技術を利用して、中脳から大腦基底核や前頭前野に投射するドーパミン神経路を選択的に除去したサルを作製し、この神経回路が報酬に基づく強化学習にどのように関与するかの研究に取り組んだ。宮地グループは、高田グループと共同して、サルを用いた研究を担当した。
- ③ 初山グループは、ラット・マウス脳スライスをを用いた電気生理学的解析に取り組み、前脳基底核アセチルコリ

ン性ニューロンへのシナプス伝達機構、興奮性シナプス伝達におけるドーパミンD1型受容体とP/Q型カルシウムチャネルとの選択的共役、その共役の生後発達変化を明らかにした。

④那波グループは、種々の神経栄養因子を検索して新規に中脳ドーパミン神経細胞に直接作用する可能性を持つ因子として上皮成長因子(EGF)とニューレグリン1(NRG1)の生理活性を培養系で明らかにした。これらの神経栄養因子は、末梢から未熟な脳血液関門を通して中枢神経系に作用し、中脳ドーパミン神経の発達と軸索走行を障害することにより、プレパルスインヒビションや社会行動異常などの認知行動変化を引き起こすことを実証した。

⑤曾良グループは、ドーパミントランスポーターを欠損したドーパミン神経伝達過剰マウスをADHDの動物モデルとして用い、前頭前野皮質においてノルエピネフリンによるドーパミン神経伝達の制御が本疾患の病態へ関与していることを示唆する結果を得た。

#### 4. 事後評価結果

##### 4-1. 研究の達成状況及び得られた研究成果(論文・口頭発表等の外部発表、特許の取得状況等を含む)

本研究では、まずドーパミン神経系解析システムの開発に取り組み、国際的にトップクラスの新規な標的神経細胞機能制御法および遺伝子改変モデル動物の開発に成功したことは高く評価できる。具体的には、1) 特定ニューロンタイプの神経伝達を一過性に抑制する新しい遺伝子改変技術(イムノテタヌストキシン伝達抑制法)の開発、2) サルの脳内に適用するために高頻度に遺伝子導入を可能とする融合糖タンパク質を用いた新規逆行性輸送レンチウイルスベクター系の開発、3) サルの脳内に正確に遺伝子導入するためのMRIナビゲーションシステムを利用したベクター注入技術の確立、などいずれも革新的技術である。これらの技術を用いて、げっ歯類モデルを作製しドーパミン伝達に関係する行動制御の神経回路機構の解明に取り組み1) 薬物誘導性の運動亢進作用における視床下核の役割、2) 弁別学習における線条体黒質路・淡蒼球路の役割、3) 逆転学習における線条体コリン作動性介在ニューロンの役割など、ドーパミン神経系に依存する学習や経験に基づく行動の獲得、発現、制御の基盤となる神経機構について多くの知見を得た。

本研究チームは6グループから構成され、中間評価の段階ではグループ間の連携が懸念されたが、その後、研究代表者のリーダーシップのもと役割分担の明確化、連携強化がなされ、また当領域の大隅チームと合同で研究会を開催し相互研鑽を行うなど、CRESTの特徴を活かし、当初の計画に沿ってチームとして優れた成果をあげたことは高く評価できる。

これらの研究成果は、原著論文(国内0件、国際103件)、招待講演(国内53件、国際14件)、口頭発表(国内3件、国際1件)、ポスター発表(国内135件、国際86件)で公表された。論文発表は定評ある学術雑誌に着実に発表しており質、量ともに高く評価できる。新規なレンチウイルスベクター系に関する特許出願(国内3件、海外1件)は高く評価できる。また、本研究成果はマスメディア(新聞)でも紹介された。(5件)

##### 4-2. 研究成果の科学技術や社会へのインパクト、戦略目標への貢献

本研究で確立したげっ歯類からサルまで適応可能なドーパミン神経系解析システムは国際的にトップレベルのもので、既に多くの研究グループに提供するなど神経科学や脳神経疾患の研究の発展に大きく貢献するもので高く評価できる。特に、新規な逆行性輸送レンチウイルスベクター系を用いて、サルの黒質線条体系や皮質視床下核系などにおいて、特定の神経回路の選択的除去に成功したことは、これまで解析手法の限

られていた霊長類の高次脳機能の解明に革新的なアプローチをもたらすものである。さらに遺伝子導入効率を格段に向上させた逆行性輸送レンチウイルスの開発は、遺伝子治療技術への応用につながることを期待される。

これまで脳の深部に位置し研究が困難であったドーパミン神経路を分子レベルで追求可能な独創的な技術開発を行いドーパミン系の機能についての理解を進展させたことは、将来ドーパミン神経系の異常によるとされている統合失調症、自閉症や ADHD などの病態理解につながるもので領域の戦略目標の達成に大きく貢献するものである。

#### 4-3. 総合的評価

ドーパミン神経系の機能解析に焦点を絞って多面的チームを編成し、チームとしての効果を十分に発揮し質の高い優れた成果をあげたことは高く評価できる。特に、本研究で開発したサルに適応可能な遺伝子導入効率を飛躍的に向上させた新規逆行性輸送レンチウイルスベクター系は霊長類を用いた高次脳機能解明の有力なツールとして神経科学や脳神経疾患の研究、治療の発展に大きく貢献することが期待できる。

以上