

様式3

神戸大学バイオシグナル総合研究センター共同利用研究報告書

平成 30 年 4 月 24 日

神戸大学バイオシグナル総合研究センター長 殿

所属機関・部局名 群馬大学・医学系研究科
職 名 准教授
研究代表者名 安田 浩樹

下記のとおり平成29年度の共同利用研究成果を報告します。

記

(課題番号:281010)

1. 共同利用研究 課題名	PKN によるグルタミン酸トランスポーター機能制御メカニズムの解析			
2. 共同利用研究 目的	ストレスによって、通常 PKN1に制御されている神経型グルタミン酸トランスポーター excitatory amino acid transporter 3 (EAAT3) 機能が抑制され、気分中枢における興奮性が亢進してうつや不安を惹起すると考えているが、本研究課題では主にストレスによる PKN 1機能低下メカニズムを検討する。			
3. 共同利用研究 期間	平成 29 年 4 月 1 日 ～ 平成 30 年 3 月 31 日			
4. 共同利用研究組織				
氏 名	所属部局等		職名等	役 割 分 担
(研究代表者)	群馬大学医学系研究科		准教授	研究の立案・遂行
(分担研究者)				
5. センター内受入研究者	研究部門・ 分野名	シグナル機能制御研究 部門・生体膜機能研究分 野	氏 名	向井 秀幸

※ 次の6, 7, 8の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6, 7, 8の項目全体では1頁に収めて下さい。

(課題番号:281010)

6. 共同利用研究計画

[PKN2,3 の関与]

ストレスによるグルタミン酸トランスポーター(EAAT)機能低下メカニズムについては、神経型およびグリア型 EAAT1-3 が水泳ストレスによって発現低下が生じるか、あるいは細胞膜表面へのトラフィックの異常が生じているか、申請者がストレス負荷したマウスから海馬を摘出して神戸大学に送付し、向井准教授が生化学的に検討中である。これまでトランスポーター機能低下における PKN1a の関与をノックアウトマウスを用いて検討してきたが、PKN2 の関与についても向井准教授が既に作成した PKN2 前脳特異的ノックアウトマウス、あるいは PKN1/2 ダブルノックアウトマウスを用いて調べる。また、PKN3^{fl}ox マウスを向井准教授が作成予定であり、歯状回特異的 Cre マウスと掛け合わせることで歯状回 PKN をすべてノックアウトし、PKN3 の関与について調べる。

[PKN 活性の定量]

グルタミン酸トランスポーター活性を制御している PKN について、水泳ストレスによって PKN の活性が低下しているか、あるいは単に発現が減少しているかを、申請者がストレス負荷したマウスから海馬を摘出して神戸大学に送付し、生化学的に向井准教授が定量する。

7. 共同利用研究の成果

[PKN2,3 の関与]

PKN2, 3 の関与に関して、上記のように PKN2, 3 をノックアウトしたマウスについては現在交配中であり、今後データを取得する予定である。

[PKN 活性の定量]

PKN1 の活性について、頻回水泳による PKN1 タンパク発現を生化学的に検討したところ、特に発現の変化は認めなかったため、頻回水泳は PKN1 活性自体が変化している可能性がある。PKN1 活性の定量は次年度に行う予定である。

[PKN1a KO マウス行動実験]

前年度に引き続いて、向井准教授が作成した PKN1 ノックアウトあるいは頻回水泳の、気分や不安に対する影響を検討した。

(不安について)

1日 8-15 分 5-10 日間 18-22℃の条件で頻回水泳を行うと、頻回水泳なしのマウスに比べてオープンフィールドテスト、明暗テストについて差はないが、高架式十字迷路でオープンアームに滞在する時間が増えることから、不安が減少していることが示唆された。頻回水泳はストレスではあるが、一種の心を鍛える鍛錬になっている可能性がある。PKN1a KO マウスは野生型マウスに比べて、オープンフィールドテスト、明暗テスト、および高架式十字迷路について不安が低いが、頻回水泳によってオープンフィールドテスト、明暗テストで不安が高まり、野生型と差がなくなるので、PKN1a はマウスの警戒心を高めていることが明らかになった。

(うつについて)

頻回水泳は尾懸垂検査で変化を起こさず、PKN1a ノックアウトも尾懸垂テスト、強制水泳テストにおいて影響はなかったため、頻回水泳はうつを誘発せず、PKN1a ノックアウトもうつには影響を及ぼさないことが明らかになった。

つまり、PKN1a は気分を変化させることなく動物の不安、つまり警戒心を高めることが明らかになった。また、ストレスを受けたときに警戒心を低くすることによって大胆な行動を可能にさせている可能性がある。

8. 共同利用研究成果の学会発表・研究論文発表状況

(本センターの担当教員の氏名の記載、又はこの共同利用研究に基づくとの記載のある論文等を記載して下さい。なお、論文の場合は、別刷りを1部提出してください。)

安田 浩樹、メヘルバ モナ、向井 秀幸

PKN1による海馬歯状回興奮性と不安の制御 (PKN1 normalizes dentate gyrus excitability through glutamate transporter regulation and controls anxiety.)

第 40 回日本神経科学大会(千葉 幕張メッセ)2017 年 7 月 21 日

Rana Mashud, Akira Nomachi, Akihide Hayakawa, Koji Kubouchi, Sally Danno, Takako Hirata, Kazuhiko Matsuo, Takashi Nakayama, Ryosuke Satoh, Reiko Sugiura, Manabu Abe, Kenji Sakimura, Shigeharu Wakana, Hiroyuki Ohsaki, Shingo Kamoshida & Hideyuki Mukai

Impaired lymphocyte trafficking in mice deficient in the kinase activity of PKN1

Scientific Reports 2017, 7(1):7663

9. 共同利用研究に関連した受賞, 博士学位論文の取得, 大型研究プロジェクトや競争的資金の獲得等がありましたらご記入ください。