

Title	依存症関連行動を制御する核-細胞質間輸送因子
Author(s)	青峰, 良淳
Citation	大阪大学, 2024, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/96409
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

論文内容の要旨

氏名 (青峰 良淳)

論文題名

依存症関連行動を制御する核-細胞質間輸送因子

論文内容の要旨

薬物依存症とは薬物に対する身体的・精神的な依存状態の形成を主症状とする精神疾患であり、現代社会において重大な健康および社会的問題を引き起こす。しかしながら依存症の治療薬は少なく、その原因として疾患の根底にある細胞内分子メカニズムの全容が明らかでないことが挙げられる。近年、依存形成に関与する細胞内メカニズムとしてヒストン修飾等のエピジェネティクスが着目されている。興味深いことに、ヒト疫学研究において *KPNA3* (インポーチン $\alpha 3$) の一塩基多型はアルコール依存症を含む4つの精神疾患に関連することが報告されている。*KPNA3*は核移行能を持つインポーチン $\beta 1$ および核移行シグナルを持つタンパク質と3量体を形成し、核タンパク質を核内へ輸送する機能を持つ。このように*KPNA3*は核内で機能する転写因子等のタンパク質の核内輸送を担っており、遺伝子発現制御の上流に位置する重要なエピジェネティック因子であることから、本論文では依存症関連行動制御における*KPNA3*の細胞内機能を探索した。

初めに、*Kpna3*欠損マウスを用いた行動および生理指標の解析により*Kpna3*欠損が依存症関連行動に与える影響を評価した。*Kpna3*欠損雄マウスは野生型マウスに比べて有意なスクロース報酬探索行動の増加、自発的飲酒量の増大、エタノール誘導行動感受量の減少、血中コルチコステロン量の低下を示した。ストレス応答経路であるHPA軸の下流物質であるコルチコステロン量が低下していることから、*Kpna3*欠損雄マウスはエタノール刺激に対する感受性が低下した結果として上記の行動表現型を示すことが示唆された。一方で、*Kpna3*欠損雌マウスでは有意な自発的飲酒量の減少、急性エタノール投与による自発的行動量の減少が観察され、*Kpna3*欠損は雌マウスにおいて鎮静効果を主とするエタノール感受性を増強する可能性が見出された。また、これらの依存症関連行動異常の背景にある脳内活動を可視化するため、*c-Fos*陽性細胞数に基づく脳内ネットワーク解析を行い、*Kpna3*欠損は雄マウスの報酬探索行動制御において重要な役割を果たすハブ領域を変動させることが明らかとなった。

脳内ネットワーク解析において*Kpna3*欠損の影響が強く見られた脳領域組織を用いたトランスクリプトーム解析および転写因子解析により、*Kpna3*欠損はE-box配列下流遺伝子の発現を抑制することが示された。また、共免疫沈降プロテオーム解析により、189個の*Kpna3*と相互作用するタンパク質を同定した。興味深いことに、両解析に共通してE-box配列周辺で機能しヒストンアセチル化を調節するMYC/MAD/MAXネットワークの構成因子が多数同定された。以上のことから、*Kpna3*は報酬行動およびエタノール感受性において重要な役割を果たしており、その分子メカニズムとしてMYC/MAD/MAXネットワークを介したヒストンアセチル化制御を見出した。

Drug dependence is a psychiatric disorder characterized by the formation of physical and psychological dependence on drugs, causing serious health and societal issues in modern society. However, there are few curative medications for addiction, because the full understanding of the underlying intracellular molecular mechanisms of the disorder remains unclear. In recent years, epigenetics, such as histone modification, has been recognized as a cellular mechanism involved in addiction formation. Interestingly, in human epidemiological studies, a single nucleotide polymorphism of *KPNA3* (*importin $\alpha 3$*) has been reported to be associated with four psychiatric disorders, including alcohol dependence. *KPNA3* forms a trimer with *importin $\beta 1$* , which is the nuclear transport receptor, and nucleoproteins with nuclear localization signals, facilitating the transport of nucleoproteins into the nucleus. Since *KPNA3* is responsible for the transport of nucleoproteins such as transcription factors and is an important epigenetic factor upstream of gene expression regulation, this paper explores the intracellular function of *KPNA3* in addiction-related behavior.

First, we evaluated the effects of Kpna3 deficiency on addiction-related behaviors by analyzing behavioral and physiological parameters in Kpna3-deficient mice. Kpna3 deficient male mice exhibited significant increases in sucrose reward-seeking behavior, spontaneous ethanol consumption, decreased ethanol induced behavioral sensitization, and reduced blood corticosterone levels compared to wild type mice. The decrease in corticosterone levels, a downstream substance of the stress response pathway HPA axis, suggests that Kpna3 deficient male mice exhibit decreased sensitivity to ethanol stimulation, resulting in the behavioral phenotypes. On the other hand, Kpna3 deficient female mice showed significant decreases in spontaneous ethanol consumption and spontaneous locomotor activity following acute ethanol administration, suggesting that Kpna3 deficiency may enhance ethanol sensitivity as sedative effects in female mice. Furthermore, to visualize the brain activity underlying these addiction-related behavioral abnormalities, brain network analysis based on the number of c-Fos-positive cells revealed that Kpna3 deficiency alters hub regions critical for reward-seeking behavior in male mice.

Transcriptome analysis and transcription factor analysis using brain region tissues where Kpna3 deficiency had a pronounced effect on brain network analysis identified that Kpna3 deficiency suppresses the expression of genes downstream of E-box sequences. Additionally, proteome analysis by co-immunoprecipitation identified 189 proteins interacting with Kpna3. Interestingly, both analyses identified numerous components of the MYC/MAD/MAX network, which functions around E-box sequences to regulate histone acetylation. In summary, Kpna3 plays a significant role in individual reward behavior and ethanol sensitivity, and its molecular mechanism involves the regulation of histone acetylation via the MYC/MAD/MAX network.

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (青 峰 良 淳)		
	(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査	教授 志賀 向子
	副 査	教授 岡田 眞里子
	副 査	准教授 富永 恵子

論文審査の結果の要旨

薬物依存症は現代社会において重大な健康上および社会的問題を引き起こす。しかし、疾患の根底にある細胞内分子メカニズムの全容は明らかでなく、予防法や治療薬の開発が妨げられている。近年、依存形成の細胞内メカニズムとしてエピジェネティックな遺伝子発現制御機構が着目されており、核-細胞質間輸送を担う KPNA3 (インポーチン α 3) がヒト遺伝子解析研究において、アルコール依存症を含む精神疾患に関連していることが報告されている。KPNA3 は、核内で機能する転写因子等のタンパク質の核内輸送を担っており、遺伝子発現制御の上流に位置する重要なエピジェネティック因子である。

学位申請者は本論文「依存症関連行動を制御する核-細胞質間輸送因子」において、依存症関連行動における KPNA3 の細胞内機能を調査し、依存形成に関与する新規の遺伝子発現制御メカニズムを探索した。はじめに、*Kpna3* 欠損マウスを用いた複数の行動解析により、*Kpna3* 欠損は雄マウスのスクロースやエタノールに対する報酬探索行動を増加させる一方、エタノールによる行動感作現象を抑制することが示された。続いて *Kpna3* 欠損は雄マウスの定常状態における血中コルチコステロン量を低下させることが示された。これは、*Kpna3* 欠損による雄マウスのストレス感受性の抑制を示唆し、これにより、行動表現型を説明し得る可能性が見出された。

さらに脳内ネットワーク解析の結果、*Kpna3* 欠損は雄マウスの脳領域間機能的接続性を特定の領域で高め、報酬探索行動制御に関わる脳領域において重要な役割を持つことが示唆された。脳領域組織および神経様培養細胞のトランスクリプトーム解析および転写因子解析により、*Kpna3* 欠損は E-box 配列下流遺伝子の発現を抑制することが示された。また、共免疫沈降プロテオーム解析も併せ、E-box 配列周辺で機能するものとして MYC/MAD/MAX ネットワークの構成因子が多数同定された。本ネットワークは E-box 配列下流のクロマチンのヒストンアセチル化を調節する分子ネットワークであることから、*Kpna3* 欠損は MYC/MAD/MAX ネットワークに影響を与え、E-box 配列下流遺伝子の発現を抑制する可能性が示唆された。これらの知見は、これまで未知であった依存症関連行動における KPNA3 の機能の一端を、行動、脳領域ネットワーク、分子メカニズムの3つの観点から総合的に示したものである。

本研究成果は、アルコール依存症を含む精神疾患の背景にある分子機構について新しい知見につながるものであり、神経科学、精神医学研究に大きく寄与すると期待される。

よって、本論文は博士(理学)の学位論文として十分価値あるものと認める。