

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 10 日現在

機関番号：33916

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26870686

研究課題名(和文) 幼若期マウスで生じる神経細胞成熟異常の分子メカニズムと制御法の探索

研究課題名(英文) Time-course analysis of gene expression patterns in the brain of a mouse model of schizophrenia during postnatal development

研究代表者

萩原 英雄 (HAGIHARA, Hideo)

藤田保健衛生大学・総合医科学研究所・助教

研究者番号：80514504

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：マイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現データにもとづいたバイオインフォマティクス解析を行うことにより、精神疾患モデルマウスの生後発達期に生じる海馬歯状回顆粒細胞の成熟異常に関わると考えられる候補分子・分子パスウェイを絞り込んだ。これらの候補分子には、細胞内小器官の形態形成に関わることが知られている分子や、細胞内分子シグナル伝達経路に関わる分子が含まれていることがわかった。またこれらの分子は、成体のモデルマウスの海馬歯状回においても生後発達期と同様な発現異常が見られたことから、成体における海馬歯状回顆粒細胞の成熟異常の正常化の際のターゲットとなる可能性が考えられた。

研究成果の概要(英文)：Shn2 KO mice, an animal model of schizophrenia, have been shown to exhibit maturation abnormalities in the granule cells of the hippocampal dentate gyrus (DG), in which the molecular and physiological properties are similar to those of normal immature granule cells. Analysis of several molecular expressions has suggested that maturation abnormalities in the cells emerge during postnatal development.

To find the molecular mechanisms responsible for maturation abnormalities of the cells, we conducted bioinformatics analyses of the microarray data examining the expression changes during postnatal development in the DG of the mutant mice. We used the following bioinformatics tools: NextBio, DAVID (Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery), WGCNA (Weighted gene co-expression network analysis), and CONFAC (Conserved Transcription Factor Binding Site) software. Several signaling pathways were implicated in the emergence of maturation abnormalities in the DG.

研究分野：神経科学

キーワード：海馬歯状回 神経細胞成熟異常

1. 研究開始当初の背景

申請者の所属研究部門ではこれまでに160系統以上の遺伝子改変マウスに対して「網羅的行動テストバッテリー」(図1A)を行うことによって、多数の精神・神経疾患モデルマウスを同定してきた。この中でもとりわけ顕著な行動異常のプロファイルを示す CaMKII のヘテロ欠損マウスにおいて、成体の脳にもかかわらず、海馬歯状回のほぼすべての神経細胞が未成熟な状態にある「未成熟歯状回」という現象を世界で初めて見出した (Yamasaki et al., Molecular Brain, 2008)。この「未成熟歯状回」はやはり顕著な行動異常を示す Schnurri-2 (Shn2) 欠損マウス (Takao et al., Neuropsychopharmacology, 2013) 変異体 SNAP-25 ノックインマウス (Ohira et al., Molecular Brain, 2013) さらには統合失調症モデルとして提唱されている前脳特異的カルシニューリン欠損マウスなどでも見られることがわかってきた。さらに驚くべきことに、薬物やけいれん発作などによって、一旦成熟した神経細胞が擬似的な未成熟状態に戻る「脱成熟」という現象も発見し (Kobayashi et al., PNAS, 2010; Shin et al., Bipolar Disorders, 2013)、未成熟歯状回、脱成熟歯状回をあわせて「非成熟歯状回」と名付けた。この「非成熟歯状回」はヒトの統合失調症患者と双極性気分障害患者の死後脳でも見られることから (Walton et al.,

Translational Psychiatry, 2012) 精神疾患の有力な中間表現型として提唱している (図1B) (Hagihara et al., Neural Plasticity, 2013)。

申請者は、この「非成熟歯状回」の発生時期の絞り込みを行うべく、様々な週齢の Shn2 欠損マウスの脳を調べたところ、幼若期において歯状回の神経細胞が「脱成熟」を起こすことを見出した (Takao et al., Neuropsychopharmacology, 2013)。具体的には、生後2週齢では、成熟神経細胞のマーカーであるカルピンジンの発現細胞は、野生型と Shn2 欠損マウスでその数に差はなかった。その後4週齢においては、野生型マウスでは正常な発達に伴いカルピンジン陽性細胞数は増加するが、Shn2 欠損マウスでは逆に減少していた。この結果は、Shn2 欠損マウスにおいて、生後2週齢から4週齢の間に歯状回神経細胞で「脱成熟」が生じていることを意味する。すなわち、成体で観察される「非成熟歯状回」は幼若期に端を発する「脱成熟」の過程を経て生じていたことが明らかとなった。これは、統合失調症が青年期以降の人生早期に発症することと対応している可能性が考えられる。つまり、歯状回神経細胞の脱成熟は行動レベルでの異常の発生に伴う現象、あるいは前駆的に起こる現象である可能性がある。しかし、この歯状回神経細胞の成熟異常の発生メカニズムについてはまだほとんど分かっていない。

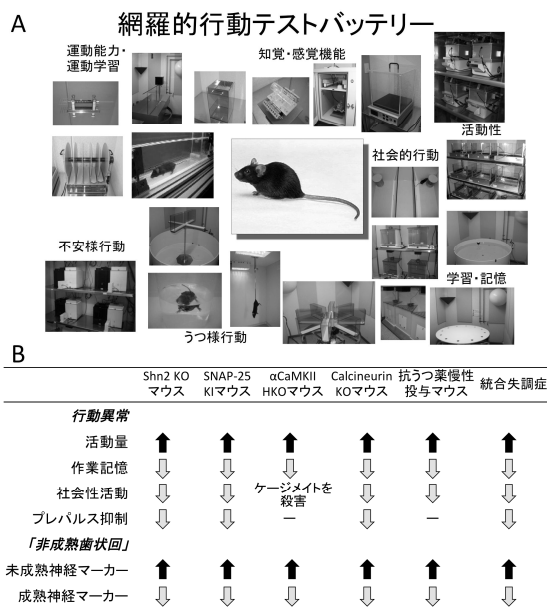


図1. 精神疾患モデルマウスと統合失調症患者で共通する多くの表現型：(A) これまでに160系統以上の遺伝子改変マウスについて「網羅的行動テストバッテリー」を行ってきた。(B) この中で共通した精神疾患様の行動異常プロファイルをもつ複数系統のマウスを同定した(↑が亢進・増加を、↓が抑制・減少を示す)。これらのマウスの成体の脳内では、共通して「非成熟歯状回」が見られる。

2. 研究の目的

脳の神経細胞は、未成熟な状態から成熟した状態へと一方向のみに発達の変化を遂げるものとこれまで考えられてきた。しかし、申請者の所属部門の研究グループでは、海馬の歯状回において、様々な遺伝的要因や環境的要因により、一旦成熟した神経細胞が擬似的な未成熟状態に舞い戻る「脱成熟」が生じること(非成熟歯状回)を明らかにした。しかし、この「非成熟歯状回」が生じる分子メカニズム、およびその機能的役割については不明である。申請者は最近、作業記憶障害などの認知機能障害を示す統合失調症モデルマウスである Shn2 欠損マウスにおいて、「非成熟歯状回」は幼若期に発生することを見出した。そこで本研究課題では、このモデルマウスを用いて幼若期に生じる神経細胞の成熟異常の分子メカニズムの解明と制御法の確立を目的とする。

3. 研究の方法

申請者らは、Shn2 欠損マウスにおいて、海馬歯状回の神経細胞の脱成熟は生後2週から4週の間で始まることを見出した。本研究課題では、生後4週までの Shn2 欠損マウスの海馬歯状回において、どのような遺伝子発現パターンの経時的変化が生じているのかを検討する。マイクロアレイデータにもとづいたバイオインフォマティクス解析を行うこ

とにより、脱成熟の発生に関連する分子、および分子シグナルパスウェイの絞り込みを行う(図2)。解析には、バイオインフォマティクスツール

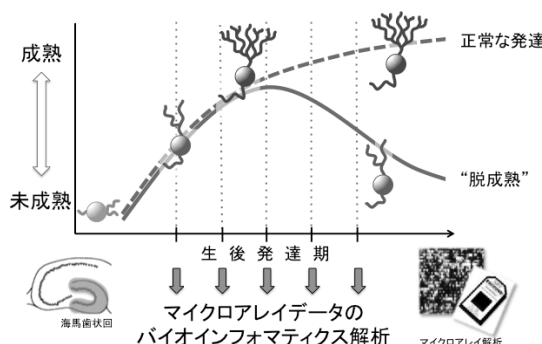


図2. 幼若期に生じる“脱成熟”の分子機序の推定と正常化方法の探索：歯状回神経細胞の脱成熟が起こる生後2~4週を含めた時期における歯状回のマイクロアレイデータを、各種のバイオインフォマティクスの手法を用いて解析する。これにより、脱成熟が生じる際にコアとなる分子・分子パスウェイの推定を行う。

「DAVID」(米国国立がん研究所)、「NextBio」(米国イルミナ社)、「WGCNA」、「CONFAC software」などを用いる。例えば、「DAVID」を用いると、当該の遺伝子群に共有されているアノテーション情報(生物学的プロセス、分子機能など)や分子パスウェイ情報などを得ることができる。「NextBio」では、公的リソースに収納されている各種のライフサイエンス情報(膨大な量のジーンチップ実験データ、関連疾患のゲノムワイド関連解析の結果など)との類似性を網羅的・定量的に比較することができる。マイクロアレイデータにもとづいた各種のバイオインフォマティクス解析より、脱成熟の発生にコアに関連する分子・シグナルパスウェイの同定ができれば、それに基づいた予防・治療薬の選択・開発に応用できる可能性がある。

4. 研究成果

マイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析データにもとづいた各種バイオインフォマティクス解析を行うことにより、生後発達期(生後2週齢から4週齢の間)に生じるShn2欠損マウスの海馬歯状回顆粒細胞の脱成熟にコアに関わると考えられる候補分子を推定した。これらの解析により候補と考えられた分子には、細胞内小器官の形態形成に関わることが知られている分子や、細胞内分子シグナル伝達経路に関わる分子が含まれていることがわかった。そこで、まず、これ

らの分子の発現異常が、Shn2欠損マウスの生後発達期に特異的な現象なのかどうか明らかにするため、成体のShn2欠損マウスの海馬歯状回の遺伝子発現データを調べた。その結果、これらの分子に関して、4ヶ月齢以降のShn2欠損マウスの海馬歯状回においても、生後発達期と同様な発現異常が見られた。つまり、生後発達期に生じる海馬歯状回顆粒細胞の脱成熟にコアに関わっていると考えられる分子の発現異常が、成体になっても続いていることがわかった。これらの分子は、成体において、海馬歯状回顆粒細胞の脱成熟の正常化の際のターゲットとなる可能性が考えられた。これまでに得られた結果をうけて、成体Shn2欠損マウスにおいて薬理的介入により脱成熟した海馬歯状回顆粒細胞の正常化法確立のための検討を開始した。In vivoで両側の海馬に特異的にかつ長期間の薬剤投与を行うため、ダブルラインカニューラと浸透圧ポンプを組み合わせる。候補分子あるいはその分子の関わる分子パスウェイを制御する薬剤・化合物の投与実験を引き続き検討する。

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 0件)

〔図書〕(計 0件)

〔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

萩原英雄 (HAGIHARA, Hideo)
藤田保健衛生大学・総合医科学研究所・助教
研究者番号：80514504

(2)研究分担者
()

研究者番号：

(3)連携研究者
()

研究者番号：