

平成 30 年 6 月 8 日現在

機関番号：33916

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K21457

研究課題名(和文) 精神疾患モデルマウスにおけるアストロサイト成熟異常の分子機序と機能的意義の解明

研究課題名(英文) Maturation abnormalities of astrocytes in the brain of mouse model of psychiatric disorders

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・講師

研究者番号：80514504

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：これまでの解析により、成体のSchnurri-2欠損マウスの海馬においてアストロサイトの成熟異常が示唆されている。本研究では、トランスクリプトームデータに基づいたバイオインフォマティクス解析などを主に行い、アストロサイト成熟異常の発生に関連する可能性のある分子、シグナルパスウェイの絞り込みを行った。

研究成果の概要(英文)：Schnurri-2 knockout 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 (Takao et al, Neuropsychopharmacology, 2013). Recently, maturation abnormalities of the astrocytes have also been suggested in the brain of the mutant mice. In this study, we performed bioinformatics analyses of transcriptome data sets to get insights into potential maturation abnormalities of the cell types in the brain of Schnurri-2 knockout mice.

研究分野：神経科学

キーワード：アストロサイト

1. 研究開始当初の背景

統合失調症の発症メカニズムには、遺伝因子と環境因子の相互作用による脳発達の障害が関係していると考えられているが、その詳細なメカニズムはわかっていない。申請者の所属研究部門ではこれまでに170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」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 (Miyakawa et al., PNAS, 2003; Arron et al., Nature, 2006; Nakatani et al., Cell, 2009 など)。その中でも特に顕著な精神疾患様の行動異常を示す  $\alpha$ CaMKII ヘテロ欠損マウス (Yamasaki et al., Mol. Brain, 2008)、Schnurri-2 (Shn2) 欠損マウス (Takao et al., Neuropsychopharmacology, 2013)、変異体 SNAP25 ノックインマウス (Ohira et al., Mol. Brain, 2013) などにおいて、成体の脳にもかかわらず、海馬歯状回のほぼ全ての神経細胞が未成熟な状態にある「未成熟歯状回」という現象が共通して生じていることを世界ではじめて見出した。この「未成熟歯状回」に類似した現象は、ヒトの統合失調症患者および双極性障害患者の脳でも見られること

から (Walton et al., Transl. Psychiatry, 2012)、歯状回神経細胞の成熟異常が精神疾患に関連する可能性が示されている (Hagihara et al., Neural Plast., 2013)。最近、この「未成熟歯状回」という現象には慢性炎症が伴うことが明らかとなってきた (Takao et al., Neuropsychopharmacology, 2013)。グリア細胞の一種のアストロサイトの細胞体が肥大し、活性化状態にあることが共通する特徴だが、加えて、炎症時に発現誘導される補体ファミリー分子の発現が上昇している。補体ファミリー分子の発現上昇は特定の精神・神経疾患患者の死後脳解析においても見られる。補体ファミリー分子 C1q は正常な脳発達期においては、余剰に形成された神経細胞シナプスの除去に必須な分子である (Stevens et al., Cell, 2007; Stephan et al., Annu. Rev. Neurosci., 2012)。Shn2 欠損マウスなど未成熟歯状回を持つマウスの海馬ではシナプスマーカーの発現減少が認められ (Takao et al., Neuropsychopharmacology, 2013)、C1q を介した過剰なシナプス除去が起こっている可能性が考えられる。正常な脳において、C1q は幼若アストロサイトのマーカー分子のひとつと考えられることから (Kurronen et al., GSE29317) この成体 Shn2 欠損マウスにおける C1q の発現過多な状態は、炎症のある側面を表していると同時に、未成熟なアストロサイトの存在を示唆する。さらに、統合失調症患者 (Hagihara et al., Mol. Brain, 2014) および成体 Shn2 欠損マウスの脳の遺伝子発現パターンは幼若アストロサイトのそれと有意な類似性を示すことがわかり、これは成体脳における未成熟アストロサイトの存在を強く支持する。

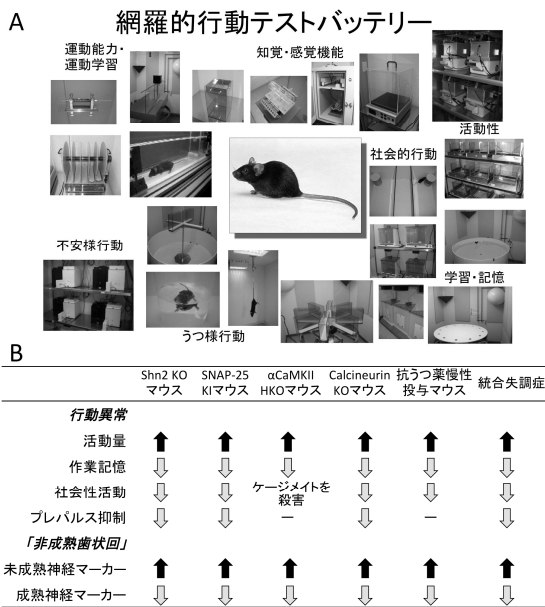


図 1. 精神疾患モデルマウスと統合失調症患者で共通する多くの表現型：(A) これまでに170系統以上の遺伝子改変マウスについて「網羅的行動テストバッテリー」を行ってきた。(B) この中で特に顕著な精神疾患様の行動異常プロファイルをもつ複数系統のマウスを同定した ( 対照の野生型マウスに比べて遺伝子改変マウスで亢進・増加している項目を、 が抑制・減少を示す)。これらのマウスの成体の脳内では、共通して「未成熟歯状回」が見られる。「未成熟歯状回」に類似した現象は統合失調症患者においてもみられる (Walton et al., 2012)。

2. 研究の目的

そこで本研究では、統合失調症などの精神疾患の脳内病態の一つとしてアストロサイトの成熟異常を想定し、モデルマウスを活用してその可能性を検証する。

3. 研究の方法

DNA マイクロアレイや RNA シーケンスなどで得られたトランスクリプトームデータを基にパイオインフォマティクス解析を行うことにより、アストロサイトの成熟異常の発生に関連する可能性のある分子、シグナルパスウェイの絞り込みを行う。データの収集には公的データベースに登録されているデータも活用する。解析にはパイオインフォマティクスツール「DAVID」(米国国立がん研究所)、「BaseSpace」(イルミナ社)などを用いる。「DAVID」により、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。「BaseSpace」を用

いると、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（約 10 万のトランスクリプトーム解析のデータ、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。BaseSpace では、2つのデータセットのペアワイズ相関を、ノンパラメトリック手法で検定を行う（ランニングフィッシャー法）。この検定では、データセット内でのそれぞれの遺伝子発現変動量の順位と、発現変動の方向（増加あるいは減少）が考慮される（Kupersmidt et al., PLoS ONE, 2010）。これらにより、アストロサイトの成熟異常にコアに関連する分子・シグナルパスウェイの絞り込みを行う。

#### 4. 研究成果

免疫組織学的解析、および遺伝子発現パターン解析により、成体の Shn2 欠損マウスの海馬においてアストロサイトの成熟異常が示唆されている。このアストロサイトの成熟異常は脳内全体で生じ得る現象なのか、領域選択的に生じ得るのかを検討した。DNA マイクロアレイ解析により得られた、成体 Shn2 欠損マウスの内側前頭前野での遺伝子発現変化パターン（成体の Shn2 欠損マウスを基準にしたときの成体野生型マウスで有意に発現が変化していた遺伝子群; Takao et al., Neuropsychopharmacology, 2013）と、野生型マウスの幼若アストロサイトでの遺伝子発現変化パターン（30日齢の野生型マウスを基準にしたときの7日齢の野生型マウスで有意に発現が変化していた遺伝子群; Cahoy et al., J. Neurosci., 2008）を、バイオインフォマティクスツール BaseSpace を用いて統計学的に比較した。その結果、両者の遺伝子発現パターンの類似度は有意ではないことがわかった。つまり、これらの結果から、Shn2 欠損マウスにおけるアストロサイトの成熟異常は、脳内全体で生じている現象ではなく、海馬を含めた領域選択的に生じている現象であることが示唆された。

成体の野生型マウスと比べて Shn2 欠損マウスの海馬で発現変化している遺伝子の発現パターンと、成体野生型マウスのアストロサイト（正常脳組織から単離されたアストロサイト）と比べて幼若野生型マウスのアストロサイトで変化している遺伝子の発現パターンが似ているということなどがこれまでにわかっていた。しかし、これらの解析においては、単離したアストロサイトの DNA マイクロアレイ解析のデータを用いているため、Shn2 欠損マウスと幼若アストロサイトで共通して発現が変化していた遺伝子が、アストロサイト特異的な遺伝子なのかは不明であった。そこで、アストロサイトに高い選択性をもって発現している遺伝子セットも含めてメタ解析を行った。まず、公的データベ

ス（Zhang et al., J. Neurosci., 2014）を用いた CELL TYPE(S) ENRICHMENT 解析を行い、ニューロン、マイクログリア、オリゴデンドロサイト、内皮細胞のそれぞれと比較してアストロサイトで発現量が高い遺伝子群を選出した。得られたアストロサイト選択的遺伝子セットと、成体 Shn2 欠損マウスの海馬で発現変動している遺伝子セット、幼若野生型マウスの脳から単離されたアストロサイトで発現変動している遺伝子セットを用いてメタ解析を行い、これらの遺伝子セットに共通する遺伝子の絞り込みを行った。このメタ解析により絞り込まれた遺伝子群について、DAVID を用いて Gene Ontology 解析を行ったところ、Oxidoreductase の働きに関わる遺伝子が含まれていることがわかった。以上の結果から、Shn2 欠損マウスの海馬のアストロサイトにおいて、細胞内の酸化還元状態の異常に伴う成熟異常が生じていることが示唆される。

#### 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・講

師

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：

(4)研究協力者  
( )