

機関番号： 33303
 研究種目： 若手研究 (B)
 研究期間： 2009~2010
 課題番号： 21791045
 研究課題名 (和文) 新生児中枢神経発達に影響を及ぼす母乳シグナル伝達物質の網羅的解析
 研究課題名 (英文) The exhaustive analysis of signal transducing molecules contributing to neonatal brain development in breast milk
 研究代表者
 島村 英理子 (SIMAMURA ERIKO)
 金沢医科大学・医学部・講師
 研究者番号：00267741

研究成果の概要 (和文) : ラットの初乳および成乳のプロテオミクス解析と、乳腺細胞の DNA マイクロアレイ解析を行い、ラット初乳に含まれる神経発生に関連した候補蛋白質および候補遺伝子を数種類同定した。また、母乳の中枢神経発達への影響を検討する為に新生児人工哺育システムを構築し、完全栄養管理下でのサイトカイン等の定量的経口投与が可能となった。

研究成果の概要 (英文) : We identified candidate proteins which are relevant with brain development by proteomics and DNA micro array analyses of rat colostrum. The new artificial rearing system for rat neonates was established to be able to administer small amounts of neurogenetic factors exactly to neonates per os under complete nutritional care, providing new *in vivo* model to evaluate candidates affecting the postnatal brain development.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,800,000	840,000	3,640,000
2010年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学／胎児・新生児医学

キーワード：新生児医療、未熟児、中枢神経、発生学、母乳

1. 研究開始当初の背景

これまでに我々は、ラットの経胎盤による LIF-ACTH-LIF 母胎間シグナル伝達が胎児神経前駆細胞の増殖を促すことを明らかにし、

胎盤のシグナルトランスデューサーとしての役割を提唱してきた。ラット出生時の脳はヒトの胎生 20 週頃に相当し、出生後急速な発達を遂げることから初乳には脳発達に関

わる重要な因子が含まれていると予想された。

2. 研究の目的

本研究では、20週以降の母胎間シグナル伝達の胎盤に相当する媒体としてラット乳腺細胞および母乳を想定し、乳腺細胞のDNAマイクロアレイ解析、および母乳蛋白質の網羅的解析を行う。また、完全栄養管理下で実験を行うラット新生児の人工哺育システムを構築することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 乳腺細胞のmRNA発現の動態: 出産日(P0)およびP4 dayのラット乳腺組織からmRNAを抽出し、DNAマイクロアレイによる発現遺伝子の網羅的解析を行った。

(2) P0, P1, P3, P14のラット母乳を搾乳し、遠心分離操作により得た乳清画分を2次元電気泳動で展開し、主要なスポットをnano-HPLC-ESI-MS/MSで解析した。また、低分子蛋白およびペプチドは酸処理後にプロテインチップを用いて解析した。

(3) P0からの人工哺育システムを構築するため、新生児経口投与用ゾンデの開発を行った。

4. 研究成果

(1) P0での発現がP4に比べて高かった遺伝子では、Gfra3、Igf1、Igf2が挙げられた。

(2) 蛋白質の変動はP0 vs P1で最も大きく39.1%であったのに対し、P1以降は各日数間の変動は約20%と一定であった。また主要蛋白質にはglial fibrillary acidic proteinが含まれていた。

(3) 先端特殊加工したゾンデにより、帝王切開により抽出した新生児を8時間毎の経口投与による完全人工哺育にて飼育する事に成功した。また人工ミルクを作成し、完全栄養管理下において、サイトカイン等を定量的に経口投与できるシステムを確立した。

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3件)

1. The effects of melanocortins on fetal development. Simamura E, Shimada H, Shoji H, Otani H, Hatta T. *Congenit Anom*, 査読有, (Review) (in press)

2. Maternal leukemia inhibitory factor (LIF) promotes fetal neurogenesis via a LIF-ACTH-LIF signaling relay pathway. Simamura E, Shimada H, Higashi N, Uchishiba M, Otani H, Hatta T. *Endocrinology*, 査読有, 151, 2010, 1853-1862

(本論文はFaculty of 1000 biologyに選出された)

(第50回日本先天異常学会奨励賞受賞論文)

3. Paraquat toxicity induced by voltage-dependent anion channel 1 acts as an NADH-dependent oxidoreductase. Shimada H, Hirai K-I, Simamura E, Hatta T, Iwakiri H, Mizuki K, Hatta T, Sawasaki T, Matsunaga S, Endo Y and Shimizu S. *J Biol Chem*, 査読有, 284, 2009, 28642-28649

[学会発表] (計16件)

1. 内芝舞実, 島村英理子, 島田ひろき, 東伸明, 増田浩子, 八田稔久: ラット胎児連続切片のバーチャルスライドライブ

- ラリーの構築, 第 116 日本解剖学会総会, (神奈川, '11.3.28).
2. T.Hatta, H.Shimada, E.Simamura, Y.Ishigaki, N.Higashi, T.Tatsuno, F.Takano: Alteratio of gene expression profiles in the fetal cerebrum after injection of leukemia inhibitory factor into dams, Society for NEUROSCIENCE 2010, (San Diego, '10.11.15).
 3. 東 伸明, 島田ひろき, 島村英理子, 八田稔久: 大動脈腹側枝と背側枝の派出位置について, 第 70 回日本解剖学会中部支部学術集会, (岐阜, '10.10.16).
 4. 島村英理子, 島田ひろき, 東 伸明, 内芝舞実, 大谷 浩, 八田稔久: The regulation of fetal neurogenesis via maternal-fetal LIF-ACTH-LIF signaling relay pathway, 第 33 回日本神経科学大会, (兵庫, '10.9.2).
 5. 島村英理子, 増田浩子, 島田ひろき, 東海林博樹, 村上学, 東伸明, 八田稔久: 赤血球脱核誘導因子による成熟赤血球の培養法, 第 46 回金沢医科大学医学学会学術集会, (内灘, '10.7.17).
 6. 島村英理子: 胎盤を介した母胎間シグナルリレー LIF-ACTH-LIF による胎児発生調節機構, 第 50 回日本先天異常学会学術集会, (淡路島, '10.7.8). (奨励賞授賞講演)
 7. 島村英理子, 島田ひろき, 東 伸明, 内芝 舞実, 大谷 浩, 八田 稔久: 胎盤を介した母胎間シグナルリレーLIF-ACTH-LIFの時期特異性, 日本先天異常学会第 50 回学術集会, (淡路島, '10.7.8).
 8. 金山景錫, 八田稔久, 島村英理子, 島田ひろき, 瀬上夏樹: ビスフェノールAのマウス下顎頭に及ぼす影響, 第 50 回日本先天異常学会学術集会, (淡路, '10.7.8).
 9. 島田ひろき, 島村英理子, 内芝舞実, 東伸明, 増田浩子, 高田尊信, 土田秀行, 石垣靖人, 友杉直久, 八田稔久: ラット初乳中の蛋白, ペプチド成分のプロファイリング, 第 50 回日本先天異常学会学術集会, (淡路島, '10.7.8).
 10. 東 伸明, 島田ひろき, 島村英理子, 八田稔久: 腹大動脈腹側枝の派出位置の計測, 第 115 回日本解剖学会総会・全国学術集会, (岩手, '10.3.30).
 11. T.Hatta, E.Simamura, H.Otani : Maternal LIF contributes to fetal development via a LIF-ACTH-LIF signaling relay pathway, International Symposium Analyses of Developmental Phenomena: Toward the elucidation of the developmental origins of diseases, (Izumo, '09.10.30).
 12. T.Hatta, E.Simamura, H.Shimada, M.Uchishiba, N.Higashi : Maternal leukemia inhibitory factor enhances proliferation of neuronal progenitors of forebrain in rat fetuses, Society for NEUROSCIENCE 2009, (Chicago, '09.10.17-21).
 13. E.Simamura, H.Shimada, N.Higashi, H.Otani, T.Hatta : Leukemia inhibitory factor level in cerebrospinal fluid is elevated via placental adrenocorticotrophic hormone in rat fetuses, Society for NEUROSCIENCE 2009, (Chicago, '09.10.17-21).
 14. 東 伸明, 島田ひろき, 島村英理子, 八田稔久: 標準型腹腔動脈について, 第 68

回中部支部学術集会，（名古屋，
'09.10）.

15. 八田稔久，島村英理子，島田ひろき，東
伸明：母胎間LIFネットワークによる胎
児脳の発育調節，第45回金沢医大医学
会，（内灘，'09.7.25）.
16. E.Simamura， H.Shimada， N.Higashi，
H.Otani， T.Hatta： Analysis of
maternal-fetal LIF-ACTH-LIF
signaling pathrogy，第49回日本先天
異常学会学術集会，（鹿児島，
'09.6.25-27）.

〔産業財産権〕

○出願状況（計1件）

名称：有核赤血球の脱核方法及び脱核誘導
剤

発明者：八田稔久、島村英理子、島田ひろき

権利者：学校法人 金沢医科大学

種類：PCT/JP2010

番号：001217

出願年月日：2010年2月23日

国内外の別：外国

〔その他〕

ホームページ：

<http://www.kanazawa-med.ac.jp/~anatomy1/index.html>

社会活動：

独立行政法人日本学術振興会研究支援事業

「ひらめき☆ときめき サイエンス～ようこそ大学の研究室へ～KAKENHI」プログラム：

1. 平成21年度 プログラム名「はやく大きくなあれ～我が子に贈る分子のメッセージ～'09」実施分担者
2. 平成21年度 プログラム名「活性酸素って知ってる？ー不老長寿の献立はできるのかー」実施分担者

3. 平成22年度 プログラム名「人のからだってどうやってできるの？～生命の誕生を顕微鏡でのぞいてみよう～」実施代表者

6. 研究組織

研究代表者

島村 英理子 (SIMAMURA ERIKO)

金沢医科大学・医学部・講師

研究者番号：00267741

研究協力者

八田 稔久 (HATTA TOSHIHISA)

金沢医科大学・医学部・教授

研究者番号：20238025

友杉 直久 (TOMOSUGI NAOHISA)

金沢医科大学・医学部・教授

研究者番号：80155580

石垣 靖人 (ISHIGAKI YASUHIITO)

金沢医科大学・付置研究所・講師

研究者番号：20232275