

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 5月31日現在

機関番号：82401
 研究種目：基盤研究(C)
 研究期間：2010～2012
 課題番号：22500396
 研究課題名（和文） 老化促進モデルマウスを用いた加齢による表現型多様性とその原因遺伝子の解析
 研究課題名（英文） Analysis of relationship between age-dependent phenotype change and gene
 研究代表者
 高橋 英機（TAKAHASHI EIKI）
 独立行政法人理化学研究所・動物資源開発支援ユニット・支援ユニットリーダー
 研究者番号：40446521

研究成果の概要（和文）：

本研究は、老化を指標に促進老化を示すP系統と正常老化を示すR系統に大別される複数の亜系統が樹立されている老化促進モデルマウスを用いて、運動や記憶、アルコール嗜好性などの各種行動試験と遺伝子解析を行い、加齢と表現型に関わる染色体領域や遺伝子を探索することを目的とする。これまでに加齢依存的な表現型の変化に関与する染色体領域が各々の表現型で得られており、現在データベースや他の変異マウスを活用して原因遺伝子の特定を進めている。

研究成果の概要（英文）：

In this study to examine the relationship between aging and behavioral changes, we used senescence-accelerated mouse (SAM) strain, behavioral tests including motor activity, memory, and alcohol preference tests, and QTL analyses. We have found chromosomal regions involved in age-dependent phenotype changes in the behavioral test. We are trying to identify the causative gene(s) using the database and other mutant strains.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	0	0	0
2009年度	0	0	0
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012年度	1,000,000	300,000	1,300,000
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：実験動物学・実験動物学

キーワード：老化、表現型解析、遺伝子解析、マウス、行動解析、QTL解析

1. 研究開始当初の背景

多因子疾患は、複数の感受性遺伝子の相乗効果と環境要因の影響によると考えられる。しかしながら、特定された原因遺伝子群はごく少数である。また、加齢の要素が加わることで重篤な病気が引き起こされる場合がある。若年性(家族性)アルツハイマー病では、アミロイド前駆タンパク質、プレセニン1ならびにプレセニン2の三つの遺伝子が報告されているが、一般的な弧発型の老年性アルツハイマー病は、加齢要素を含む多因子疾患であるが、その特定はまだである。

多因子疾患の解析には、発症と遺伝子マーカーとの相関関係を指標に原因遺伝子の存在領域を絞り込む連鎖解析法が有効である。しかしヒトは寿命が長く遺伝的背景が複雑であり、さらに交配実験が不可能なため限界がある。そこで自由な交配が可能なモデル動物が広く用いられている。

2. 研究の目的

本研究の目的は、老化を指標に促進老化を示すP系統と正常老化を示すR系統に大別される複数の亜系統が樹立されている老化促進マウスなどを用いて各種行動試験や連鎖解析を行い、加齢依存的な表現型多様性に関わる遺伝子を探索することである。

3. 研究の方法

P6より採取した未受精卵とP8から採取した精子、またはP8より採取した未受精卵とP6から採取した精子を体外受精させ、翌日発生の進んだ2細胞期胚を予め作成した偽妊娠マウスの卵管内に移植し、出産哺育をさせた。必要に応じて帝王切開を行って産仔を取り出し、里親に哺育させた。生後4週目の雑種第一世代のマウスは1匹ずつ個別ケージに移し、2ヶ月齢時に新規ケージ活動性試験などによる運動量の測定、八方向放射迷路試験などによる記憶能力の測定、2ボトル選択試験によるアルコール嗜好性の測定を行い各個体の行動特性を明らかにした。また試験項目によっては2ヶ月齢時に使用した個体が6ヶ月齢時の試験に影響を与えることを避けるため、2ヶ月齢時に使用した個体とは別の個体で、新規ケージ活動性試験などによる運動量の測定、八方向放射迷路試験などによる記憶能力の測定を行い、各個体の行動特性を明らかにした。同様に、生殖工学的手法を応用して、雑種第一世代のマウスからバックロス第一世代と雑種第二世代のマウスを得、それぞれの2ヶ月齢時および6ヶ月齢時に各種行動試験を行なった。飼育スペースとマンパワーなどについては受精卵凍結等などの発生の工学的手法を利用して省力化を行い、原因に関連すると考えられる遺伝子の変異マウスを用いて検証を進めるなどして、効率よく研究を進めた。

4. 研究成果

これまでに P6 系統と P8 系統との比較で、2 ヶ月齢の運動量は P8 系統が高く、記憶には差がなく、アルコール嗜好性は P6 系統が高いこと、6 ヶ月齢では、運動量は P6 系統が高いこと、記憶は P6 系統が優れていること、アルコール嗜好性は P6 系統が高いことがそれぞれ明らかになった。次に P6 系統と P8 系統の雑種第一代、バッククロス第一代、雑種第二世代のマウスを作成した。そして 2 ヶ月齢および 6 ヶ月齢での運動量、記憶、アルコール嗜好性を測定して QTL 解析したところ、これらの表現型は多因子疾患であり、その原因を示唆する複数の領域が得られた。得られた領域のうち加齢依存的な表現型の変化に関与する領域を検討したところ、関連領域が各々の表現型で得られ、現在データベースや老化促進マウス以外のマウス系統を活用して原因遺伝子の特定を進めている。

ヒトでは成熟期以後になると様々な変化が起こる老化現象が現れ、例えば、程度の差はあれ誰にでも運動量の減少や記憶力の低下が認められる。本研究では老化促進の遺伝的背景を持ったマウスなどを用いることにより、運動量や記憶などの高次機能に加齢が関与してくる遺伝子（群）の抽出があと一歩のところまで到達している。これらに関わる分子が何であるかを明らかにすることは予防法や治療法の開発にとっても極めて重要であり、これらの開発に必須なモデル動物の提供が期待できると期待している。

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 14 件)

①Tian X, Zhou Y, Gao L, He G, Jiang W, Li W, Takahashi E. Analysis of ischemic neuronal injury in the Cav2.1 channel α_1 subunit mutant mice. *Biochem Biophys Res Commun*. 査読有. 2013. 434:60-64. doi: pii: S0006-291X(13)00520-2.10.1016/j.bbrc.2013.03.066.

②Niimi K, Ito N, Nishioka C, Arasaki T, Watanabe K, Tsuji A, Arai T, Takahashi E. Study of the timing of Cesarean hysterectomy and progesterone administration for routine microbiological decontamination of mice. *Research Animals*. 査読有. 2013. 1:13-17. doi: なし

③Li W, Zhou Y, Tian X, Kim TY, Ito N, Watanabe K, Tsuji A, Aoyama Y, Niimi K, Arai T, Takahashi E. New ataxic tottering-6j mouse allele containing a *Cacna1a* gene mutation. *PLoS ONE*. 査読有. 2012. 7: e44230. doi: 10.1371/journal.pone.0044230.

④Fukumoto N, Kitamura N, Niimi K, Takahashi E, Itakura C, Shibuya I. Ca^{2+} channel currents in dorsal root ganglion neurons of P/Q-type voltage-gated Ca^{2+} channel mutant mouse, rolling mouse Nagoya. *Neurosci Res*. 査読有. 2012.

73:199-206. doi:10.1016/j.neures.2012.04.006.

⑤ Yue XS, Fujishiro M, Nishioka C, Arai T, Takahashi E, Gong JS, Akaike T, Ito Y. Feeder cells support the culture of induced pluripotent stem cells even after chemical fixation. PLoS ONE. 2012. 査読有 . 7: e32707. doi: 10.1371/journal.pone.0032707.

⑥ Takahashi E, Niimi K, Itakura C. Emotional behavior in heterozygous rolling mouse Nagoya Cav2.1 channel mutant mice. Neurobiol Aging. 2011. 査読有 . 32:486-496. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2009.03.001.

⑦ Takahashi E, Niimi K, Itakura C. Role of Cav2.1-mediated NMDA receptor signaling at nucleus accumbens in spatial short-term memory. Behav Brain Res. 査読有. 2011. 218:353-356. doi: 10.1016/j.bbr.2010.12.019.

⑧ Takahashi E, Niimi K, Itakura C. Subthreshold pharmacological and genetic approaches to analyzing Cav2.1-mediated NMDA receptor signaling in short-term memory. Eur J Pharmacol. 査読有 . 2010. 64:113-118. doi:10.1016/j.ejphar.2010.07.02.

⑨ Takahashi E, Niimi K, Itakura C. Levetiracetam-mediated emotional behavior in heterozygous Rolling Nagoya Cav2.1 channel mutant mice. Pharmacol Biochem Behav. 査読有 . 2010. 96:294-300. doi:

10.1016/j.pbb.2010.05.020.

⑩ Takahashi E, Niimi K, Itakura C. Impairment of spatial short-term memory following acute administration of the NMDA receptor antagonist in heterozygous rolling Nagoya mice carrying the Cav2.1 α 1 mutation. Behav Brain Res. 査読有. 2010. 213:121-125. doi: 10.1016/j.bbr.2010.04.030.

⑪ Takahashi E, Niimi K, Itakura C. Interaction between Cav2.1 α 1 and CaMKII in Cav2.1 α 1 mutant mice, Rolling Nagoya. J Mol Neurosci. 査読有 . 2010. 41:223-229. doi: 10.1007/s12031-009-9216-5.

⑫ Takahashi E, Niimi K, Itakura C. Neonatal motor functions in *Cacna1a*-mutant rolling Nagoya mice. Behav Brain Res. 査読有 . 2010.207:273-279. doi:10.1016/j.bbr.2009.10.01.

⑬ Niimi K, Takahashi E, Itakura C. Hallucinogenic 5-Hydroxytryptamine 2A receptor agonist effects in senescence accelerated mouse. Exp Anim. 査読有. 2010. 59:441-447. doi:なし

[学会発表] (計 6 件)

① 青山曜、金泰延、新美君枝、高橋英機、板倉智敏. Senescence-Accelerated Mouse (SAM) P1 マウスの運動機能障害に関する検討. 第 155 回日本獣医学会 2013 年 3 月 29 日 東京.

②青山曜、新美君枝、高橋英機、板倉智敏。
Senescence-Accelerated Mouse (SAM) P1 マウスの運動機能の検討。第 154 回日本獣医学会 2012 年 9 月 14 日 岩手。

③新美君枝、高橋英機、板倉智敏。老化促進マウス SAMP6 系統と他の近交系マウス系統における運動量およびドーパミンシステムの加齢変化の比較。第 59 回日本実験動物学会 2012 年 5 月 26 日 大分。

④高橋英機。網羅的表現型解析システムを用いた脳機能研究モデルマウスの開発と記憶のメカニズム解明に関する研究。第 153 回日本獣医学会 2012 年 3 月 28 日 大宮。

⑤ 新美君枝、高橋英機、板倉智敏。
Senescence-Accelerated Mouse (SAM) P6 および P8 を用いたアルコール嗜好性の検討。第 152 回日本獣医学会 2011 年 9 月 19 日 大阪。

⑥ 新美君枝、高橋英機、板倉智敏。老化促進マウス SAMP6 系統における運動量とドーパミンシステムの検討。第 57 回日本実験動物学会 2010 年 5 月 13 日 京都。

〔図書〕(計 3 件)

① Takahashi E. Effect of aging on changes of nociception and Cav2 α 1 expression patterns in seven inbred mouse strains. Neurological Disorders: New Research (ISBN 978-1-62257-042-3). Chapter IX. p66-77. Editor: Thomas CE and Moore JR. Nova Science

Publishers, Inc. New York. 2012.

② Takahashi E. Cav2.1-mediated NMDA receptor signaling in short-term memory. Short-Term Memory: New Research (ISBN 978-1-62100-860-6). Chapter XIII. p215-226. Editor: Kalivas G and Petralia SF. Nova Science Publishers, Inc. New York. 2012.

③ Takahashi E. Cav2.1 channelopathy and mouse genetic approaches to investigate function and dysfunction of Cav2.1 channel. Calcium Signaling (ISBN 978-1-61324-313-8). Chapter XII. p149-158. Editor: Yamaguchi M. Nova Science Publishers, Inc. New York. 2012.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高橋 英機 (TAKAHASHI EIKI)
独立行政法人理化学研究所・動物資源開発支援ユニット・支援ユニットリーダー

研究者番号：4 0 4 4 6 5 2 1

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし