

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 4 月 30 日現在

機関番号：33916

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2010～2012

課題番号：22651075

研究課題名（和文）系統間マウス交配により生じるクロマチン構造の不安定化

研究課題名（英文）Instability of chromatin structure caused by inter-subspecies mouse hybrids

研究代表者

梅森十三（UMEMORI JUZOH）

藤田保健衛生大学・総合医科学研究所・助教

研究者番号：20462913

研究成果の概要（和文）：(200 字程度)

マウスの系統間交配により生じる遺伝的不適合マウスでは、致死や脊髄神経の髄鞘形成不全などの障害の他に、神経系でのレトロトランスポゾンの一つである、IAP (Intracisternal A-particle) の発現の上昇とメチル化の低下が生じるが、そのメカニズムの詳細は不明である。本研究課題により、このマウスの脊髄では低分子RNAの発現パターンが劇的に変化していることが明らかになり、クロマチン構造の不安定化のようなエピジェネティック状態の変化がゲノムワイドに生じている可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

Genetically incompatible mice, which are generated by inter-subspecies breeding, show pleiotropic defects, including lethality and dysmyelination in the spinal cord. They also exhibit epigenetic abnormalities in the central nervous system, such as dysregulation of an LTR-type retrotransposon, IAP (Intracisternal A-particle), and demethylation in the genomic region. The present study revealed that expression pattern of various kinds of small RNA are dramatically changed in the neonatal spinal cord in mice, suggesting that genetic incompatibility results in genome-wide alterations of epigenetic states and instability of chromatin structure.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	800,000	0	800,000
2011 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2012 年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	690,000	3,790,000

研究分野：ゲノム医科学

科研費の分科・細目：ゲノム科学・ゲノム医科学

キーワード：遺伝的不適合、髄鞘形成不全、レトロトランスポゾン、低分子 RNA、エピジェネティクス

1. 研究開始当初の背景

我々はこれまでに、マウスの系統間交配により、致死および不妊、脊髄神経の髄鞘形成不全などの障害を示す遺伝的不適合マウスを見出した（論文投稿準備中）。このマウスの脊髄では、あるレトロトランスポゾンの発現の上昇とメチル化の低下、さらには低分子RNAの異常発現の兆候が見られた。これらの観察結果は、ゲノム交雑により、神経系の細胞において、エピジェネティック状態の変化やクロマチン構造の不安定化が生じている可能性を示唆している。このような現象は、植物の種間交雑における不稔や、DNAメチル化酵素等のエピジェネティック制御に関与する遺伝子を破壊したマウスの生殖細胞系列では報告されているが（Michalak, *Heredity*, 2009; Bourc'his et al., *Nature*, 2004）、マウスの体細胞、特に神経系の細胞ではほとんど報告が無い。

そこで本研究では、遺伝的不適合マウスをモデルとして、神経系細胞におけるクロマチン構造の安定化や遺伝子発現を制御する、新たなエピジェネティック機構の発見を目指した。

2. 研究の目的

遺伝的不適合マウス脊髄において生じているエピジェネティック制御の崩壊やクロマチン構造の不安定化を明らかにする。さらに、これらの不安定化が実際のマウス表現型、特に髄鞘形成にどのような影響を与えるかを検証する。

3. 研究の方法

本研究では、遺伝的不適合性マウスのクロマチン構造の不安定化により生じるIAPや低分子RNAの脱制御と髄鞘形成不全の関係を明らかにするため、大きく分けて以下の2つの解析を行った。

(1) 遺伝的不適合マウス、新生仔の脊髄で発現する低分子RNAの網羅的解析

(2) 遺伝的不適合性マウスにおけるショートヘアピンRNA (shRNA)によるIAP発現の抑制効果の検証

4. 研究成果

(1) 遺伝的不適合マウス脊髄で発現する低分子RNAの網羅的解析

遺伝的不適合マウスのエピゲノム異常を調べるため、生後直後のBLG-*GenicI*^{kk}およびコントロール系統(BLG2)の脊髄より抽出した低分子RNAを、次世代シーケンスにより解析した。その結果、①IAPに関連する低分子RNAの発現量がBLG-*GenicI*^{kk}で増加していたこと、②IAP以外のレトロトランスポゾンに関連する低分子RNAについては発現量に大きな差がみられないこと、③miRNAを含めた低分子RNAの発現量がゲノムワイドに増減していたことを明らかにした。これらの結果は、BLG-*GenicI*^{kk}新生仔の脊髄ではクロマチン構造が不安定になり低分子RNAの制御機構が破綻している可能性、さらにこの現象に

IAP (Intracisternal A-particle)の発現制御が関与している可能性を示唆している（論文投稿準備中）。

(2) 遺伝的不適合性マウスにおけるショートヘアピンRNA (shRNA)によるIAP発現の抑制

遺伝的不適合マウスでは、IAPの発現が中枢神経系の各組織で亢進していた（論文投稿準備中）。その一つである脊髄でのIAPの異常発現と髄鞘形成不全との関係を調べるために、IAPの発現を半分以下に抑えるshRNAを高発現する遺伝的不適合マウスを、レンチウイルスを用いた方法で作成した。しかし、このトランスジェニックマウスは、生後直後の脊髄でのIAP発現が効果的に抑

えられていなかったため、髄鞘形成不全の回復を観察することはできなかった。これは shRNA の発現量が少ないか、IAP が過剰発現している細胞では shRNA が発現していない可能性を示している。現在はこのマウスを用いて、遺伝的不適合マウスのもう一つの特徴である致死性と IAP の過剰発現との関連を調べている。

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 2 件)

- ① Umemori J, Takao K, Koshimizu H, Hattori S, Furuse T, Wakana S, Miyakawa T., ENU-mutagenesis mice with a non-synonymous mutation in Grin1 exhibit abnormal anxiety-like behaviors, impaired fear memory, and decreased acoustic startle response. BMC Res Notes. 2013 May 21;6(1):203. (査読有り)
- ② Takao K, Kobayashi K, Hagihara H, Ohira K, Shoji H, Hattori S, Koshimizu H, Umemori J, Toyama K, Nakamura HK, Kuroiwa M, Maeda J, Atsuzawa K, Esaki K, Yamaguchi S, Furuya S, Takagi T, Walton NM, Hayashi N, Suzuki H, Higuchi M, Usuda N, Suhara T, Nishi A, Matsumoto M, Ishii S, Miyakawa T. Deficiency of Schnurri-2, an MHC Enhancer Binding Protein, Induces Mild Chronic Inflammation in the Brain and Confers Molecular, Neuronal, and Behavioral Phenotypes Related to Schizophrenia. Neuropsychopharmacology. 2013 Feb 6. doi: 10.1038/npp.2013.38. (査読有り)

[学会発表] (計 5 件)

- ① Umemori J, Hagihara H, Nakamura KH, Horikawa T, Shoji H, Toyama K, Irino Y, Yoshida M, Kamitani Y, Miyakawa T, “Behavioral state of model mice of bipolar disorders can be retrospectively predicted by gene expression and metabolome patterns”, Society for Neuroscience 2012, 2012.10.15. New Orleans, LA.
- ② Umemori J, Hagihara H, Nakamura KH, Horikawa T, Shoji H, Toyama K, Irino Y, Yoshida M, Kamitani Y, Miyakawa T, “Behavioral state of model mice of bipolar disorders can be retrospectively predicted by gene expression and metabolome patterns”, The 35th Annual Meeting of Society for Neuroscience, 2012.9.18, Nagoya, Japan.
- ③ Umemori J, Mori A, Uno T, Yuasa S, Koide T, “Neurological defects caused by genetic incompatibility in mice”, Society for Neuroscience 2011, 2011.11.16, Washington, DC.
- ④ Umemori J, Mori A, Uno T, Yuasa S, Koide T, “Dysmyelination and tremor caused by genetic incompatibility in mice”, Society for Neuroscience 2010, 2010.11.14, San Diego, CA.
- ⑤ 梅森十三, “遺伝的不適合マウスにおけるエピジェネティック異常”, 第 82 回日本遺伝学会 2010 年 9 月 20 日、札幌

[図書] (計 1 件)

- ① 梅森十三, 小久保博樹, 小出剛, 相賀裕美子, マウス胚発生カレンダー、Medical Bio 2010 年 1 月号付録

6. 研究組織

(1) 研究代表者

梅森十三 (UMEMORI JUZO)

藤田保健衛生大学・総合医科学研究所・助教

研究者番号：20462913

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし