

平成 22 年 5 月 7 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～ 2009
 課題番号：19591205
 研究課題名（和文） 中枢神経の新規ストレス蛋白リポカリン型プロスタグランジンD合成酵素の機能解明
 研究課題名（英文） The mechanism lipocalin-type prostaglandin D synthase in the CNS
 研究代表者
 毛利 育子（MOHRI IKUKO）
 大阪大学・連合小児発達学研究所・准教授
 研究者番号：70399351

研究成果の概要（和文）：

オリゴデンドログリア（OLs）は中枢神経系においてミエリン形成を担う細胞である。OLsに発現する蛋白質の一つにリポカリン型プロスタグランジンD合成酵素（L-PGDS）があるが、詳しい発現機構はわかっていない。本研究ではマウスOLsの培養細胞系を確立し、L-PGDSの発現時期の検討を行った。免疫染色ではL-PGDSはミエリンシートを形成しはじめるOLDの段階から発現していることを見いだした。また、L-PGDSはOLDの短時間の低温暴露等の刺激で免疫染色の強度が増強することを確認した。

研究成果の概要（英文）：

Lipocalin-type prostaglandin D synthase (L-PGDS) is one of the oligodendrocyte (OLs) related protein. However, the expression mechanism and the function of L-PGDS in OLs is not understood. In this research, we revealed that the L-PGDS is produced by OL itself from early differentiating stage of OLs using primary cultured mouse OLs.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・小児科学

キーワード：オリゴデンドロサイト、低酸素、虚血、神経変性疾患、培養、シャペロン、Alzheimer病、新生児

1. 研究開始当初の背景

オリゴデンドログリア（OLs）は中枢神

経系においてミエリン形成を担う細胞であり、その変性・消失により脱髄が引き起

こされる。近年 OLs は軸索の発達を促進したり神経生存や神経機能を支持しているという報告がなされ(REF)、髄鞘形成以外の OLD の新しい機能、とりわけ 傍神経 OLs とニューロンの相関が注目されている。OLs に発現する蛋白質の一つにリポカリン型プロスタグランジン D 合成酵素(L-PGDS)があり、ミエリン形成後の成熟脳において発現が増加することがわかっている。L-PGDS は脳内の主要なプロスタグランジンである PGD₂ 合成酵素であると同時に、レチノイド・甲状腺ホルモン・ビリルビン等の脂溶性低分子物質に結合/輸送するリポカリン作用を持つユニークな蛋白である。髄膜に発現する L-PGDS により産生される PGD₂ は睡眠誘発作用を持つとされているが、OLD に発現する L-PGDS の生理機能は不明であった。

ガラクトシルセラミダーゼの欠損による遺伝性脱髄疾患クラッペ病のモデルマウスである twitcher (*GALC^{twi/twi}*)は、病理や臨床症状がヒト疾患に類似するため脱髄の病態解明や骨髄移植などの治療的試みに広く用いられて来た。申請者らは、twitcher 脳において脱髄の進行とともに他のミエリン関連蛋白とは逆に L-PGDS の発現量が増えていくこと、変性過程にある OLs、特に傍神経 OLs に L-PGDS の発現が強いこと、L-PGDS 陽性 OLs の多い部位では脱髄が軽度であることを見出した(Taniike et al. 2002)。Twitcher の脱髄は OLD のアポトーシスによるため(Taniike et al., 1999)、申請者らは L-PGDS は抗アポトーシス作用を持つのではないかとの仮説を立て、L-PGDS 欠損マウスと twitcher の交配により得た L-PGDS 欠損 twitcher の解析により、この仮説を証明した。加えて、ニューロンのアポトーシスは

twitcher では認められないが、L-PGDS 欠損 twitcher では多数認められるという不測の現象を見出し、傍神経 OLs が L-PGDS 産生を通じて神経保護作用を持つことを証明した (Taniike et al. 2002)。

申請者らは、L-PGDS の増強が twitcher に特異的な現象ではなく、様々な神経疾患に共通して見られることを見いだしている。まず、ヒト多発性硬化症患者脱髄巣において、OLs やアストロサイトで L-PGDS の発現が増加していること、これらの L-PGDS 陽性細胞はストレス蛋白である aB-crystalline を共発現していることを報告した (Kagitani-Shimono et al. 2006)。さらに、テイサックス病やニーマンピック病等の神経変性を来すリソソーム病モデルマウス脳でも L-PGDS は OLs およびニューロンに発現が増強し、神経内に蓄積するガングリオシドと L-PGDS が特異的に結合すること (Mohri et al., 2006) を見いだした。

2. 研究の目的

本研究ではマウス脳から採取した培養 OLs ではどの時期に L-PGDS が発現し、どのような条件下で発現が増強するのかを検討した。さらに、ヒトの脳組織を用い、新生児の低酸素性虚血性脳症における L-PGDS の発現を調べた。

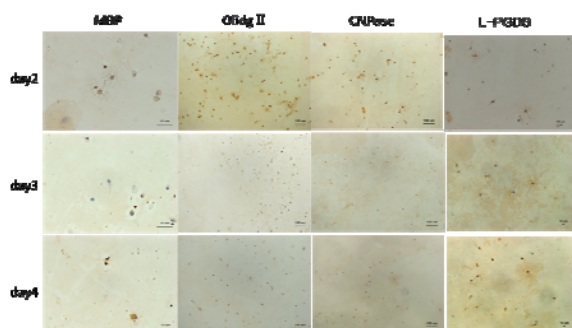
3. 研究の方法

妊娠 17 日マウス胎児大脳皮質を取り出し Asou 等の変法により、OLs を単離培養を行う。4 well のチェンバースライドにまき、単離培養開始後 1、2、4、7 日目にサンプリングし、CNPase, MBP, Olig II, pi-GST などの OLs のマーカーで免疫染色と L-PGDS の免疫染色をおこなった。

また、低酸素性虚血性脳症でなくなった症例の脳とそれ以外でなくなった症例の脳の脳幹における L-PGDS の発現を免疫染色で調べた。

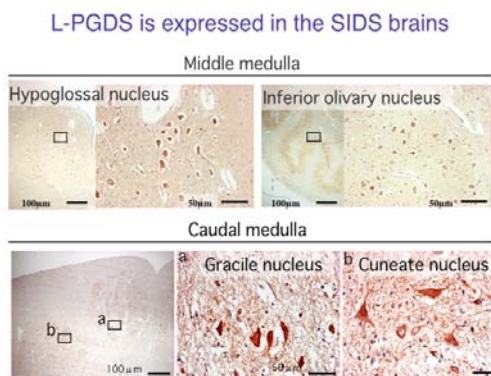
4. 研究成果

以下に培養後 2、3、4 日目の OLs の免疫染色像をしめす。OLs 関連分子として MBP, OligII, CNPase の発現と L-PGDS の発現を比較した。L-PGDS は MBP や CNPase に比し、分化が進んだ後期で発現することがわかった。



さらに、低温暴露では、4℃ 10 分でも L-PGDS の発現の有意な増加を認め、今までの報告と同様、αクリスタリンなどのストレス蛋白同様、超早期に誘導されることが示された。

さらに、急性脳障害の一つであるマウス新生児低酸素性虚血性脳症モデルの研究により、明らかな病理変化の出現の前に L-PGDS の発現が認められた。



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 22 件)

1. Okuno H, Nagai T, Sakai S, Mohri I, Yamamoto T, Yoshizaki A, Kato K, Tachibana M, Iwasaka H, Taniike M. Effectiveness of modified parent training for mothers of children with Pervasive Developmental Disorder on parental confidence and children's behavior. *Brain Dev.* 2010; in press. 査読有.
2. Kagitani-Shimono K, Kato-Nishimura K, Kitai Y, Araya K, Tominaga K, Okinaga T, Mohri I, Taniike M, Ozono K. Deficiency of REM sleep in a patient with pontine cavernous hemangioma. *No To Hattatsu.* 41(5):349-52. 2009. 査読有.
3. Mohri I, Aritake K, Taniguchi H, Sato Y, Kamauchi S, Nagata N, Maruyama T, Taniike M, and Urade Y. Inhibition of prostaglandin D synthase suppresses muscular necrosis. *Am J.Path.* 2009. 174(5):1735-44. 査読有.
4. Araya K, Sakai N, Mohri I, Kagitani-Shimono K, Okinaga T, Hashii Y, Ohta H, Nakamichi I, Aozasa K, Taniike M, Ozono K. Localized donor cells in brain of a Hunter disease patient after cord blood stem cell transplantation. *Mol Genet Metab.* 2009 98(3):255-63. 査読有.
5. Mohri I, Aritake K, Taniguchi H, Sato Y, Kamauchi S, Nagata N, Maruyama T, Taniike M, Urade Y. Inhibition of prostaglandin D synthase suppresses muscular necrosis. *Am J.Path.* 2009, 174(5):1735-44. 査読有.
6. Nabatame S, Taniike M, Sakai N, Kato-Nishimura K, Mohri I, Kagitani-

- Shimono K, Okinaga T, Tachibana N, Ozono K. Sleep disordered breathing in childhood-onset acid maltase deficiency. *Brain Dev.* 2009. 31(3):234-9. 査読有
7. Kagitani-Shimono K, Kato-Nishimura K, Kitai Y, Araya K, Tominaga K, Okinaga T, Mohri I, Taniike M, Ozono K. Deficiency of REM sleep in a patient with pontine cavernous hemangioma. *No To Hattatsu.* 2009, 41(5):349-52. 査読有.
8. 岡田志麻, 大野ゆう子, 高亜罕, 王媛媛, 加藤久美, 毛利育子, 谷池雅子. 差分画像を用いた就寝中の患者見守り方法の検討 (Investigation into Using Difference Images to Monitor Sleeping Patients). *ITヘルスケア* 3(2). 85-95. 2008 査読有.
9. Miyoshi Y, Akagi M, Agarwal AK, Namba N, Kato-Nishimura K, Mohri I, Yamagata M, Nakajima S, Mushiake S, Shima M, Auchus RJ, Taniike M, Garg A, Ozono K. Severe mandibuloacral dysplasia caused by novel compound heterozygous ZMPSTE24 mutations in two Japanese siblings. *Clin Genet.* 2008 Jun;73(6):535-544. 査読有
10. Tokimasa S, Ohta H, Takizawa S, Kusuki S, Hashii Y, Sakai N, Taniike M, Ozono K, Hara J. Umbilical cord-blood transplantations from unrelated donors in patients with inherited metabolic diseases: Single-institute experience. *Pediatr Transplant.* 2008 ; 12(6): 672- 676. 査読有
11. Mohri I, Kato-Nishimura K, Kagitani -Shimono K, Tachibana N, Ozono K, Taniike M. Restless-leg syndrome- possible unrecognized cause for insomnia and irritability in children. *No To Hattatsu.* 2008;40(6):473-477. 査読有
12. Okada S, Ohno Y, Goyahan U, Kato-Nishimura K, Mohri I, Taniike M. Examination of non-restrictive and non-invasive sleep evaluation technique for children using difference images. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc.* 1:3483-3487, 2008. 査読有.
13. Kato-Nishimura K, Taniike M, Tachibana N. Body weight reduction by CPAP treatment in a bedridden patient. *Sleep Med.* 2008 9(2):207-8. 査読有.
14. Kagitani-Shimono K, Mohri I, Yagi T, Taniike M, Suzuki K. Peripheral neuropathy in the twitcher mouse: accumulation of extracellular matrix in the endoneurium and aberrant expression of ion channels. *Acta Neuropathol.* 2008 115(5):577-87. 査読有
15. Mohri I, Kato-Nishimura K, Tachibana N, Ozono K, Taniike M. Restless legs syndrome (RLS): an unrecognized cause for bedtime problems and insomnia in children. *Sleep Med.* 2008;9(6):701-2. 査読有
16. Namba N, Etani Y, Kitaoka T, Nakamoto Y, Nakacho M, Bessho K, Miyoshi Y, Mushiake S, Mohri I, Arai H, Taniike M, Ozono K. Clinical phenotype and endocrinological investigations in a patient with a mutation in the MCT8 thyroid hormone transporter. *Eur J Pediatr.* 2008 ;167(7):785-91. 査読有
17. Mohri I, Kadoyama K, Kanekiyo T, Sato Y, Kagitani -Shimono K, Saito Y, Suzuki K, Kudo T, Takeda M, Urade Y, Murayama S, Taniike M. Hematopoietic prostaglandin D synthase and DP1 receptor are selectively upregulated in microglia and astrocytes within senile plaques from human patients

- and in a mouse model of Alzheimer disease. J Neuropathol Exp Neurol. 2007; 66(6) :469-80. 査読有.
- 1 8. Mano T, Takizawa S, Mohri I, Okinaga T, Shimono K, Imai K, Taniike M, Ozono K, Fujimura H. Neuronal intranuclear hyaline inclusion disease with rapidly progressive neurological symptoms. J Child Neurol. 2007;22(1):60-6. 査読有.
 - 1 9. Mohri I, Kadoyama K, Kanekiyo T, Sato Y, Kagitani-Shimono K, Saito Y, Suzuki K, Kudo T, Takeda M, Urade Y, Murayama S, Taniike M. Hematopoietic prostaglandin D synthase and DP1 receptor are selectively upregulated in microglia and astrocytes within senile plaques from human patients and in a mouse model of Alzheimer disease. J Neuropathol Exp Neurol. 2007; 66(6):469-80. 査読有
 - 2 0. Taniguchi H, Mohri I, Okabe-Arahoru H, Kanekiyo T, Kagitani-Shimono K, Wada K, Urade Y, Nakayama M, Ozono K, Taniike M. Early induction of neuronal lipocalin-type prostaglandin D synthase after hypoxic-ischemic injury in developing brains. Neurosci Lett. 2007;420(1):39-44. 査読有
 - 2 1. Taniguchi H, Mohri I, Okabe-Arahoru H, Aritake K, Wada K, Kanekiyo T, Narumiya S, Nakayama M, Ozono K, Urade Y, Taniike M. Prostaglandin D2 protects neonatal mouse brain from hypoxic ischemic injury. J Neurosci. 2007; 27(16): 4303-12. 査読有
 - 2 2. Kanekiyo T, Ban T, Aritake K, Huang ZL, Qu WM, Okazaki I, Mohri I, Murayama S, Ozono K, Taniike M, Goto Y, Urade Y. Lipocalin-type prostaglandin D synthase/beta-trace is a major amyloid beta-chaperone in human cerebrospinal fluid. Proc Natl Acad Sci U S A. 2007;104(15):6412-7. 査読有
- [学会発表] (計 8 件)
1. 毛利育子、谷池雅子、鈴木衣子。GM1 ガングリオシドーシスにおける髄鞘形成不全のメカニズムの検討 第 5 1 回日本神経病理学会:10.4.22-23. 東京
 2. Yamaguchi K, Kobashi S, Mohri I, Imawaki S, Taniike M, Hata Y. Brain shape homologous modeling using sulcal distribution index in MR images. Proceedings of the 2009 IEEE international conference on Systems, Man, and Cybernetics. San Antonio, TX, 14th October 2009.
 3. 毛利育子、谷池雅子。プロスタグランジン D2 合成阻害剤による筋壊死抑制。第 32 回日本神経科学大会 : 09.09.16-18 名古屋
 4. 毛利育子、谷池雅子。プロスタグランジン D2 合成阻害剤による筋壊死抑制第 51 回日本小児神経学会 09/05/28-30 米子
 5. Mohri I, Taniike M, Suzuki K. White matter abnormalities in the mouse model of GM1-gangliosidosis. Annual meeting of Society for Neuroscience : 2008.11.15-20, Washington DC, USA.
 6. Kitamura Y, Maruyama K, Okada K, Kobayashi Y, Yahata Y, Kobashi S, Mohri I, Taniike M Using eye-movements as a research tool in children with autistic spectrum disorders. 第 3 1 回日本神経科学大会 : 08.07.09-11, 東京.
 7. Mohri I, Taniike M, Suzuki K. White matter abnormalities in the mouse model of GM1-gangliosidosis. 第 31 回日本神経科学大会 : 08.07.09-11, 東京
 8. 森田祥子、赤木幹弘、毛利育子、北井征宏、新谷研、富永康仁、下野九理子、沖永剛志、

酒井規夫、谷池雅子、大藪恵一 Novel mutation による Giant axonal neuropathy の長期経過. 第50回日本小児神経学会総会 : 08.05.28-31, 東京

6. 研究組織

(1) 研究代表者

毛利 育子 (MOHRI IKUKO)
大阪大学・連合小児発達学研究科・
准教授
研究者番号 : 70399351

(2) 研究分担者

谷池 雅子 (TANIKE MASAKO)
大阪大学・連合小児発達学研究科・
教授
研究者番号 : 30263289

下野九理子 (SHIMONO KURIKO)
大阪大学・連合小児発達学研究科・
助教
研究者番号 : 60403185

(3) 連携研究者

該当なし