

平成 21 年 6 月 8 日現在

研究種目: 基盤研究 (C)
 研究期間: 2007~2008
 課題番号: 19500323
 研究課題名 (和文) Necdin/MAGE ファミリーによる成体脳での神経細胞新生と死の制御機構
 研究課題名 (英文) Necdin/MAGE family-regulated neurogenesis and neuron death in the adult brain
 研究代表者
 西村 伊三男 (NISHIMURA ISAO)
 京都府立医科大学・医学研究科・助教(学内講師)
 研究者番号: 70362621

研究成果の概要:

脳の発達異常症であるプラダー・ウィリー症候群の感受性遺伝子 *necdin* は、分化したニューロンに発現し、細胞増殖と死を抑制することにより最終分化の安定化に重要な働きをしている。Necdin/MAGE ファミリーはヒトで 30 種類以上存在するが、ショウジョウバエには単一の MAGE しかない。本研究では *necdin* 欠損マウスと MAGE RNAi ショウジョウバエを用いて、神経発生、なかでも成体ニューロン新生における機能解析を行った。Necdin 欠損マウス海馬では神経幹細胞と新生ニューロンの数に変化はなかった。一方、MAGE RNAi ショウジョウバエでは、神経前駆細胞とニューロン数が増加した。また、MAGE 過剰発現によりニューロン数は減少し、神経突起の分化異常がみられた。以上より、MAGE は神経幹細胞の細胞周期制御とニューロン分化に重要な役割を果たすことが示唆された。

交付額

(金額単位: 円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2008 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野: 総合領域

科研費の分科・細目: 神経科学・神経化学・神経薬理学

キーワード: 神経幹細胞、成体ニューロン新生、ニューロン死、*necdin*、MAGE

1. 研究開始当初の背景

ニューロンは神経幹細胞から分化すると同時に増殖能を失う。最終分化した分裂終了ニューロンが再び増殖することはなく、分裂終了できなかったニューロンはアポトーシスを起こす。このニューロンの新生は、ほ乳類の中樞神経系で胎生期にのみ起こると考えられてきた。

しかし近年、ヒトを含むほ乳類の成体脳においても、側脳室の脳室下帯と海馬歯状回の顆粒細胞下帯を中心にニューロンが新生されていることが明らかになった(図 1)。成体脳でのニューロンの新生は、記憶などの神経可塑性、アルツハイマー病によるニューロン変性死への代償機構、感情障害などの機能性精神疾患の病態への関与が示唆されている。

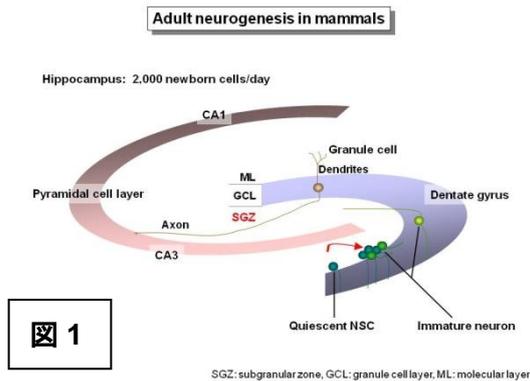


図 1

脳の発達異常症であるプラダー・ウィリー症候群の感受性遺伝子である *necdin* は、分化したニューロンに発現し、細胞増殖と死を抑制することにより最終分化の安定化に重要な働きをしている。*Necdin* と類似した配列をもつ *MAGE* ファミリー遺伝子はヒトでは 30 種類以上存在するが、ショウジョウバエには単一の相同遺伝子 *MAGE* しかない(図 2)。

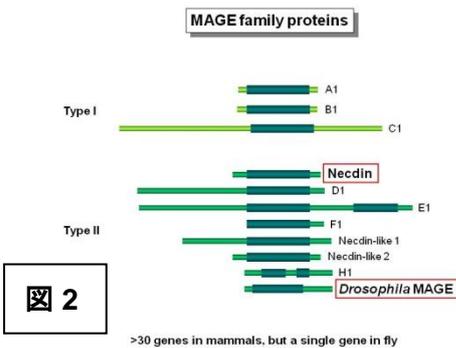


図 2

2. 研究の目的

そこで本研究では、1. *necdin*、2. ショウジョウバエ *MAGE* の神経発生、とりわけ成体脳ニューロン新生における機能を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) *Necdin* 欠損マウスを用いて、胎生期および成体脳でのニューロン新生と死の制御機構を解析した。

(2) *MAGE* に対するトランスジェニック RNA 干渉ショウジョウバエを作製して、神経発生における *MAGE* の果たす機能の解析を進めた。

4. 研究成果

(1) *Necdin* はマウス脳内でニューロンに発現するが、培養下では神経幹細胞にも発現している。げっ歯類や霊長類などの脳内では、成体においても神経幹細胞からニューロンが産生され続けている。成体マウス海馬歯状回では、顆粒細胞下帯に存在する神経幹細胞が増殖して、1日に数千個もの細胞が産生され、顆粒細胞層内に移動してニューロンに最終分化する。

そこで、*necdin* 欠損マウスで成体ニューロン新生に変化がないか解析した。DNA 複製の際に取り込まれる bromodeoxyuridine (BrdU) をマウスに腹腔内注射して 24 時間、7 日、28 日後に脳を摘出、固定して、免疫組織化学的に BrdU 陽性細胞の動態と新生ニューロンに特異的な微小管結合蛋白質 doublecortin を発現する細胞を解析した。神経幹細胞増殖の指標となる 24 時間後の BrdU 陽性細胞数、ニューロン分化と細胞死の指標となる 7 日、28 日後の BrdU 陽性細胞数、doublecortin 免疫陽性ニューロンの形態の変化を検討したが、*necdin* 欠損マウスと野生型の間で明らかな変化は観察されなかった(図 3)。

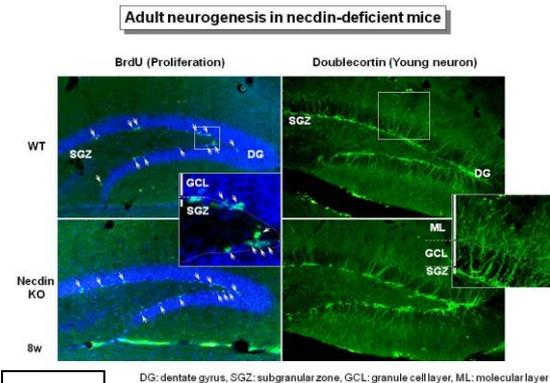


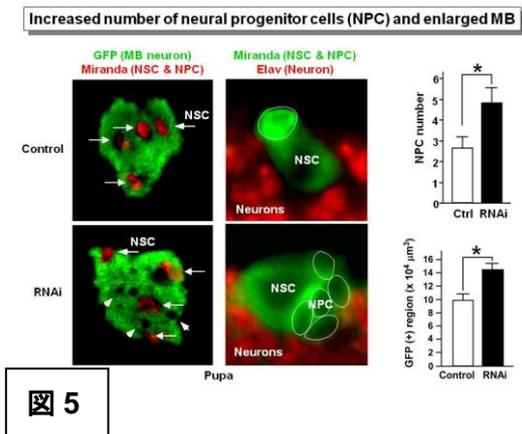
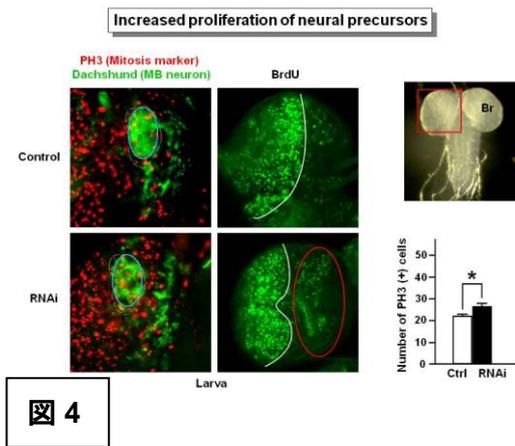
図 3

(2) ショウジョウバエの神経幹細胞は、幹細胞を自己複製するとともに、より分化した神経前駆細胞を産生する。神経前駆細胞はさらに 1 回だけ分裂してニューロンとグリアを作る。

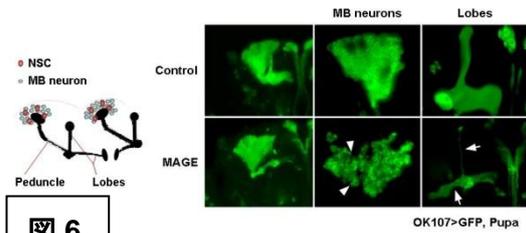
MAGE は、後胚・成体神経発生の神経幹細胞、神経前駆細胞とニューロンに発現して、成体脳では学習記憶中枢であるキノコ体などのニューロンに発現していた (*Gene Expr. Patterns*, 2007)。また *MAGE* を株化癌細胞に発現させると、*necdin* と同様に細胞増殖を抑制した。これらの知見に基づいて、*MAGE* による神経幹細胞と

ニューロン数の制御機構に焦点をあてて解析した。

MAGE に対するトランスジェニック RNAi ショウジョウバエと過剰発現ハエを作製して、GAL4-UAS 系を用いてコンディショナルに MAGE の発現を抑制または誘導して機能解析を行った。蛹期キノコ体で MAGE を発現抑制したところ、神経前駆細胞とニューロン数が増加したが、細胞死の増加は認められなかった(図 4、5)。一方、MAGE をキノコ体で過剰発現させると、ニューロン数の減少と神経突起の著明な分化異常が観察された(図 6)。したがって、MAGE は神経幹細胞の細胞周期制御とニューロン分化に重要な役割を果たすことが示唆された(*Neuroscience*, 2008)。

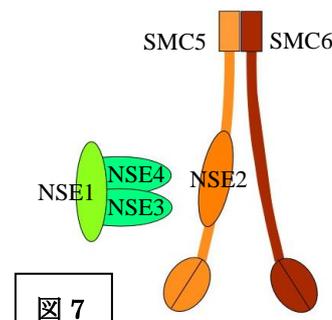


MAGE overexpression reduces the neuron number and impairs neuronal differentiation



近年の酵母 two-hybrid 法を利用したショウジョウバエ・プロテオーム解析により、MAGE が分裂酵母 Nse4 のショウジョウバエ相同遺伝子 CG13142 と結合することが明らかにされた。興味深いことに酵母 Nse4 (Qri2) は、ほ乳類 neccdin-like 2 (MAGE-G1) と高い相同性を示す酵母 MAGE (Nse3, YDR288W) と結合する。そこでマウス Nse4 (Nsmce4a) と、neccdin または neccdin-like 2 との結合をほ乳類 two-hybrid 法により解析したところ、マウス Nse4 はこれらの MAGE 蛋白質との強い結合活性を持つことが明らかになった。

今回、neccdin/MAGE との相互作用が明らかになった Nse4 は、酵母からはほ乳類まで保存された structural maintenance of chromosomes (Smc) 5/6 と呼ばれる DNA 修復複合体のサブユニットであり、細胞周期の進行に関与することが報告されている(図 7)。したがって Nse4 は、種を越えた普遍的な neccdin/MAGE のパートナーであり、ショウジョウバエやほ乳類のニューロンにおいても neccdin/MAGE 依存的な細胞周期と細胞死の制御機構に密接に関与している可能性が高い。今後、neccdin、Nse4、Smc5/6 など構成される蛋白質複合体の機能解析により、neccdin/MAGE ファミリーによるニューロン最終分化と死の分子メカニズム研究が飛躍的に発展することが期待される。



本研究では、necdin とその類似遺伝子 MAGE ファミリーを中心に、マウスをモデル生物として成体脳でのニューロン新生と死の制御機構を解析した。その後、成体脳でのニューロン新生への関与が報告されている選択的セロトニン再取り込み阻害薬 (selective serotonin reuptake inhibitor: SSRI) 等の抗うつ薬、さらにメタンフェタミン、アルコールなどの精神作用物質が、necdin 発現とニューロン新生に及ぼす影響を解析するための、マウス個体、培養神経幹細胞、切片培養系などの実験系の確立をめざした。また近年、衝動性、攻撃性、他害行為などが現れることが報告されている SSRI について、マウスなどでも相当する行動がみられないかを行動実験を実施して検討中である。

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 1 件)

- ① Nishimura I, Sakoda JY, Yoshikawa K. *Drosophila* MAGE controls neural precursor proliferation in postembryonic neurogenesis. *Neuroscience* 154, 572-581, 2008. (査読有)

[学会発表] (計 2 件)

- ① 正木大貴, 崔炯仁, 西村伊三男, 和田良久, 土田英人, 福居顯二. 認知療法とブリーフセラピーを試みた統合失調症の一例. 第 8 回日本認知療法学会. 2008 年 11 月 3 日, 東京.
- ② 松宮 徹, 西村伊三男, 黒田友基, 浅野恒一郎, 成本 迅, 土田英人, 福居顯二. 著明な脳萎縮にもかかわらず前頭葉機能が改善した神経梅毒の 1 例. 第 104 回近畿精神神経学会. 2009 年 2 月 14 日. 大阪.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

西村 伊三男 (NISHIMURA ISAO)

京都府立医科大学・医学研究科・助教(学内講師)

研究者番号: 70362621

(2) 研究分担者

吉川 和明 (YOSHIKAWA KAZUAKI)

大阪大学・たんぱく質研究所・教授

研究者番号: 30094452

福居 顯二 (FUKUI KENJI)

京都府立医科大学・医学研究科・教授

研究者番号: 14570939

土田 英人 (TSUCHIDA HIDETO)

京都府立医科大学・医学研究科・講師

研究者番号: 40336748

正木 大貴 (MASAKI DAIKI)

京都府立医科大学・医学研究科・助教

研究者番号: 457970