

令和 4 年 5 月 20 日現在

機関番号：34419

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K16268

研究課題名（和文）うつ様病態時においてオリゴデンドロサイト機能低下を惹起する新規分子機構の解明

研究課題名（英文）Towards understanding of novel molecular mechanisms regulating oligodendrocyte differentiation and myelination

研究代表者

石野 雄吾 (Ishino, Yugo)

近畿大学・東洋医学研究所・助教

研究者番号：80625088

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：(1)タンパク質のアルギニンメチル化酵素の一つであるCARM1が発達期のオリゴデンドロサイト、特に髄鞘形成期をピークに発達期に高く発現することを見出した。(2)CARM1の機能抑制によってオリゴデンドロサイトの分裂や分化が低下することを見出した。それに伴ってCARM1の機能抑制によってオリゴデンドロサイトで機能する遺伝子の発現が低下していることを見出した。(3)CARM1の機能抑制によってオリゴデンドロサイトの分化抑制および神経軸索への髄鞘形成が顕著に低下することが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によってアルギニンメチル化酵素の一つであるCARM1が発達期オリゴデンドロサイトの分化・成熟に重要なことが始めて明らかとなった。オリゴデンドロサイトの機能制御を担う新たな遺伝子を見出したものであり、今後、脳内のアルギニンメチル化タンパク質の重要性を理解する上で重要な知見となる。

研究成果の概要（英文）：Protein arginine methylation has been recognized as one of key posttranslational modifications, which is mediated by protein arginine methyltransferases (PRMTs). Although arginine-methylated proteins are highly expressed in the brain, the expression and function of PRMTs have remained largely unknown. In this study, we revealed that CARM1, one of PRMTs, regulates proliferation, differentiation and myelination of oligodendrocytes during the early brain development.

研究分野：脳発達

キーワード：オリゴデンドロサイト アルギニンメチル化 PRMTs

1. 研究開始当初の背景

脳内の神経回路網を構成する要素の一つであるオリゴデンドロサイトは、神経軸索に髄鞘を形成することで、神経細胞間的高速で精緻なコミュニケーションを可能としている。これまでのうつ病や統合失調症を代表とする精神疾患患者死後脳の解析等から、オリゴデンドロサイト数の減少や髄鞘形成異常・オリゴデンドロサイト関連遺伝子の発現変動が見出されており、オリゴデンドロサイトの機能低下による神経細胞間のコミュニケーション障害を起因とする精神疾患発症の可能性が注目されるようになってきた。

うつ病患者ではメチル化サイクルにおいて重要なメチル基供与体である SAM-e の低下が報告されており、タンパク質のメチル化機構と精神疾患発症との関連性に興味を持たれた。これまで、脳内にはアルギニンメチル化されたタンパク質が豊富に存在していることが知られていた。しかしながらその機能についての解析はほとんど進んでおらず、さらには複数のサブタイプが存在するアルギニンメチル化酵素の発現および機能についても不明な点が多い。

我々はこれまでに、アルギニンメチル化酵素である PRMT1 や CARM1 (PRMT4) を中心に機能解析を行ってきた。最近になって PRMT1 がオリゴデンドロサイトの分化・髄鞘化に重要であることが報告されたが、CARM1 のオリゴデンドロサイトにおける知見はなかった。

2. 研究の目的

本研究ではアルギニンメチル化酵素の一つである CARM1 のオリゴデンドロサイトにおける機能を明らかにすることを目的とした。うつ病などの精神疾患とタンパク質メチル化低下との関連性が予想されていること、オリゴデンドロサイトの機能低下と精神疾患との関連性が指摘されていることから、オリゴデンドロサイトの構造的・機能的変化の新規分子機構の一端を明らかにすることで、うつ病発症機構の理解および新規治療法の確立に向けた足掛かりを得る。

3. 研究の方法

(1) オリゴデンドロサイトにおける CARM1 発現の詳細な観察

発生・発達期のオリゴデンドロサイトにおいて CARM1 の発現を観察するため、様々な時期のマウスの回収し脳梁における CARM1 の発現を免疫染色により確かめた。その際オリゴデンドロサイトのマーカー遺伝子との共染色することでオリゴデンドロサイトにおける発現を観察した。

(2) オリゴデンドロサイト前駆細胞の分裂への影響

幼若期のマウス脳からオリゴデンドロサイト前駆細胞を単離し、培養下で CARM1 の阻害剤を添加することで分裂への影響を解析した。

(3) オリゴデンドロサイト分化への影響

(2)と同様にしてオリゴデンドロサイト前駆細胞を単離し、分化条件下で培養する際に CARM1 の阻害剤を添加することでその影響を解析した

(4) 軸索髄鞘化への影響

神経細胞軸索の髄鞘化への影響を調べるため、胎生期マウスの脊髄後根神経節から神経細胞を単離し、CARM1 阻害剤の存在下でオリゴデンドロサイトと共培養することによって軸索への髄鞘形成を評価した。

(5) ex vivo での解析

生後マウスの脳を用いて、CARM1 阻害剤存在下でスライス培養し、オリゴデンドロサイトの分化を評価した。

4. 研究成果

(1) マウス脳を生後 1, 7, 14, 21, 60 日目で回収し、脳梁に局在するオリゴデンドロサイトにおける CARM1 の発現を観察した。CARM1 は発達の初期からオリゴデンドロサイト前駆細胞から成熟細胞に広くに発現し、髄鞘形成が盛んに行われる生後 14 日目付近をピークに発現が減少することが明らかとなった。さらに脳梁から回収したタンパク質を用いてアルギニン

メチル化レベルを調べたところ、CARM1 の発現低下の時期に対応してメチル化されるタンパク質も減少していることが確かめられた。

(2) オリゴデンドロサイト前駆細胞の分裂への影響を調べるため、CARM1 阻害剤の存在下で BrdU の取り込みや Ki67 の発現を評価したところ、CARM1 の機能阻害によって分裂が顕著に低下しており、CARM1 が細胞分裂に重要な役割を担っていることが明らかとなった。

(3) 生後脳から回収したオリゴデンドロサイト前駆細胞を CARM1 阻害剤の存在下、分化誘導を行なった。分化マーカーである CNP や PLP の発現を指標にして評価を行なった。その結果、CARM1 の機能抑制により分化するオリゴデンドロサイトの割合が減少した。さらに分化した細胞についても、コントロールと比較してサイズが小さくなっていた。

(4) オリゴデンドロサイトは脊髄後根神経節の神経細胞を共培養することで神経軸索に髄鞘を形成する。この系を用いて CARM1 阻害剤を添加することで髄鞘形成にどのような影響が出るか調べた。CARM1 の機能抑制によって、髄鞘化するオリゴデンドロサイトの割合が顕著に減少した。さらに、通常、髄鞘化に伴って軸索上に特定のタンパク質の局在が見られるが、CARM1 の機能抑制によってその現象も見られなくなった。

(5) 生後マウス脳のスライス培養において CARM1 の機能抑制を行い、オリゴデンドロサイトの分化マーカーである PLP の発現を脳梁において解析したところオリゴデンドロサイトの分化は有意に低下していた。

以上のことから、CARM1 は発達期のオリゴデンドロサイトにおいて細胞分裂・分化に重要な機能を担っていることがわかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Ishino Yugo, Shimizu Shoko, Tohyama Masaya, Miyata Shingo | 4. 巻 82 |
| 2. 論文標題 Coactivator associated arginine methyltransferase 1 controls oligodendrocyte differentiation in the corpus callosum during early brain development | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Developmental Neurobiology | 6. 最初と最後の頁 245 ~ 260 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/dneu.22871 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

| |
|---|
| 1. 発表者名 Yugo Ishino |
| 2. 発表標題 Towards understanding of novel molecular mechanisms regulating oligodendrocyte differentiation and myelination |
| 3. 学会等名 The Japanese Society for Neurochemistry |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 石野雄吾 |
| 2. 発表標題 Towards understanding of novel molecular mechanisms underlying oligodendrocyte properties both in normal and pathological condition |
| 3. 学会等名 Neuro2019 |
| 4. 発表年 2019年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|---------------------------|-----------------------|----|
|---------------------------|-----------------------|----|

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|