

自己評価報告書

平成23年 4月14日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2008~2011

課題番号：20248030

研究課題名(和文)ステロイド/成長因子システムの中枢作用機構に関する研究

研究課題名(英文)Studies on Brain Actions of the Steroid/Growth Factor System

研究代表者

西原 真杉(NISHIHARA MASUGI)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授

研究者番号：90145673

研究分野：獣医生理学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学 基礎獣医学・基礎畜産学

キーワード：脳・神経、ステロイドホルモン、成長因子、神経新生、神経変性、性分化

1. 研究計画の概要

性ステロイドは発生段階の脳に作用して性分化を誘導し(形成作用)、性成熟後の脳に作用して雌雄それぞれの性的役割を發揮させる(活性作用)。さらに、近年性ステロイドが認知、記憶など脳の高次機能の維持や虚血性脳疾患からの回復に重要な役割を果たしていることが明らかになり、この作用は保護作用と呼ばれている。我々は、性ステロイドの保護作用は幾つかの成長因子の遺伝子発現を介すること、さらにその中には我々が同定した脳の性分化関連遺伝子(プログラニリン:PGRN)が含まれることを見出した。このことは、形成作用と保護作用が作用メカニズムを共有していることを示唆している。

本研究においては、PGRNノックアウトマウスや神経幹細胞の培養系などを用いた *in vivo* および *in vitro* の実験系を駆使して、(1)ステロイド/成長因子システムの中枢作用と作用機序、(2)PGRNの下流でその作用発現に関与する遺伝子/タンパク質群、(3)PGRNの神経幹細胞に対する作用と細胞内情報伝達機構、を明らかにすることにより、ステロイド/成長因子システムによる脳の形成作用と保護作用に共通する普遍的分子機構を解明することを目的としている。

2. 研究の進捗状況

上記の研究計画(1)~(3)に対応して、以下のような研究成果が得られた。

(1)PGRNは大腦皮質、海馬、扁桃体、視床下部、小脳などで強く発現していること、またその発現は加齢依存的に減少することを見出し、ステロイドの低下によるPGRNの低下が老齢期での神経保護作用の低下の一因となっていることが示唆された。また、PGRN KO

マウス老齢個体では神経細胞にリポフスチン沈着やグリオシスが観察され、ステロイド/成長因子システムが神経変性を抑制していることが示唆された。さらに、PGRNは青斑核の細胞数に影響を与えることにより不安行動の性差を形成すること、また運動により促進される海馬歯状回の神経新生および小脳における運動学習機能において重要な役割を担う因子であることが示唆された。

(2)周生期のPGRN KOマウスを用いて遺伝子およびタンパク質の網羅的発現解析を行い、PGRNの下流に存在する分子の同定を試みた。その結果、PGRN KOマウスでは細胞増殖、脂質代謝、神経伝達、軸索輸送などに関連する遺伝子群に変化が認められた。また、LIMホメオボックス遺伝子 *Lhx1* および LIMドメインを持つタンパク質である *LASP1* の発現がPGRN KOにおいて減少していた。神経細胞の分化や発達に関与していると考えられているLIMドメインをもつタンパク質がPGRNの機能発現に関与し、性ステロイドの脳の性分化作用を仲介していることが示唆された。

(3)野生型マウスおよびPGRN KOマウス由来の培養神経幹細胞にPGRNを添加した場合、後者でのみ細胞増殖が促進された。野性型では内因性のPGRNにより、PGRN添加の効果が観察されなかったものと考えられた。PGRNの作用機序を調べるために各種シグナル分子のリン酸化を解析した結果、PGRNに応答したGSK3 β のリン酸化(不活性化)が観察された。さらに、GSK3 β 阻害剤も神経幹細胞の増殖を促進することが明らかとなった。PGRNはGSK3 β の不活性化を介して神経幹細胞の増殖を促進するという生理活性を持つことが示唆され、発生段階や成長後の神経新生に重要な役割を果たしていると考えられた。

3. 現在までの達成度

① 当初の計画以上に進展している。

研究計画(1)では PGRN KO マウスの新規の表現型を見出し、(2)では LIM ドメインをもつ遺伝子/タンパク質、(3)では GSK3 β が PGRN の作用発現に関与することを見出すなど、オリジナリティーの高い研究成果を挙げ、主要な研究計画をほぼ達成している。残りの1年間でさらにステロイド/成長因子システムの作用機序の解析を行い、その中枢作用の生理学的意義について追究したい。

4. 今後の研究の推進方策

今後はステロイド/成長因子システムの作用機序の解析に焦点を当てた研究を行う。脳の性分化期における PGRN KO マウスと野生型マウスの脳内で発現に差のある遺伝子およびタンパク質を網羅的に解析して PGRN の作用を仲介する候補分子を得ることができたので、それらの発現細胞等に関する解析を行い、作用機序の解明を進める。また、運動学習機能や走行運動による神経新生の促進にも PGRN が関与することが明らかとなり、これらの機序についてもさらに検討を進める。さらに、脳虚血や外傷性脳障害等のモデルを作出し、その修復過程における PGRN の役割について、PGRN 発現細胞の経時的变化を解析するとともに、PGRN KO マウスにおける脳障害の回復過程と比較することにより検討を行う。このような *in vivo* の実験と並行して、培養神経幹細胞を用いた *in vitro* の実験系において、PGRN の細胞内情報伝達機構をさらに追究するために、GSK3 β の上流および下流のシグナル分子のリン酸化等に着眼した解析を行う。これらの研究により、ステロイド/成長因子システムの中枢作用機序の解明を目指す。

5. 代表的な研究成果

(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 16 件)

① Nedachi T, Kawai T, Matsuwaki T, Yamanouchi K, Nishihara M (2011) Progranulin enhances neural progenitor cell proliferation through glycogen synthase kinase 3 β phosphorylation. *Neuroscience*, in press. (査読有)

② Matsuwaki T, Asakura R, Suzuki M, Yamanouchi K, Nishihara M (2011) Age-dependent changes in progranulin expression in mouse brain. *J Reprod Dev* 57, 113-119. (査読有)

③ Ahmed Z, Sheng H, Xu YF, Lin WL, Innes A, Yu X, Hou H, Chiba S, Yamanouchi K, Petrucelli L, Nishihara M, Hutton ML, McGowan E, Dickson D, Lewis J (2010) Accelerated lipofuscinosis and ubiquitination in granulin knockout mice suggests a role for progranulin in successful aging. *Am J Pathol* 177, 311-324. (査読有)

④ Chiba S, Matsuwaki T, Yamanouchi K, Nishihara M (2009) Alteration in anxiety with relation to the volume of the locus ceruleus in progranulin-deficient mice. *J Reprod Dev* 55, 518-522. (査読有)

⑤ Dormann D, Capell A, Carlson AM, Shankaran SS, Rodde R, Neumann M, Kremmer E, Matsuwaki T, Yamanouchi K, Nishihara M, Haass C (2009) Proteolytic processing of tar DNA binding protein-43 by caspases produces C-terminal fragments with disease defining properties independent of progranulin. *J Neurochem* 110, 1082-1094. (査読有)

[学会発表] (計 15 件)

① Matsuwaki T, Asakura R, Yamanouchi K, Nishihara M. Progranulin mediates the effect of voluntary exercise on neurogenesis in the hippocampus. 40th Annual Meeting of the Society for Neuroscience, November 13, 2010, San Diego, CA, USA.

② 松脇貴志, 朝倉麗, 山内啓太郎, 西原真杉. 成長因子プログランニューリンの脳内分布と海馬神経新生における役割. 第 37 回日本神経内分泌学会学術集会, 2010 年 10 月 22 日, 京都.

③ 西原真杉. 脳の性分化と神経新生におけるプログランニューリンの役割. シンポジウム: 神経発生研究の現在と未来, 2010 年 10 月 1 日, 群馬.

④ Nedachi T, Matsuwaki T, Yamanouchi K, Nishihara M. Potential role of progranulin in neural progenitor cells. 39th Annual Meeting of the Society for Neuroscience, October 17, 2009, Chicago, IL, USA.

⑤ 板村理央, 松脇貴志, 山内啓太郎, 西原真杉. グランニューリンノックアウトマウス視床下部における遺伝子およびタンパク質の網羅的発現解析. 第 146 回日本獣医学学会学術集会, 2008 年 9 月 25 日, 宮崎.