

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24年 5月 2日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2009～2011

課題番号：21650075

研究課題名（和文） 成体ニューロン新生の日内リズムとその生理的役割の解析

研究課題名（英文） Analysis of physiological role of daily rhythms of adult neurogenesis

研究代表者

眞田 佳門 (YOSHIKADO SANADA)

東京大学・大学院理学系研究科・准教授

研究者番号：50431896

研究成果の概要（和文）：哺乳類の成体脳では、海馬歯状回や側脳室下帯などの限られた領域において神経細胞が継続的に産生されている。私は、マウスの海馬歯状回において、神経細胞の産生が夜に活発に起こるという日内リズムを示すことを見出した。また、この日内リズムは概日時計によって駆動されていることが判明した。重要なことに、海馬歯状回の神経産生を減少させると、マウスの情動が著しく変化した。このことから、海馬歯状回における神経新生のリズムは、情動の制御に深く関与していることが推察できた。

研究成果の概要（英文）：Adult neurogenesis takes place in specific regions of the mammalian brain such as the subventricular zone in the forebrain and the dentate gyrus in the hippocampus. I found that neuron production in the dentate gyrus shows a day/night variation throughout the day. The daily variation is controlled by the circadian clock. Importantly, suppression of the neuron production causes altered mood of mice, implicating the time-of-day-dependent regulation of neuron production is important for mood stabilization.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	700,000	0	700,000
2010年度	1,600,000	0	1,600,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	240,000	3,340,000

研究分野：神経科学

科研費の分科・細目：脳神経科学・神経科学一般

キーワード：成体ニューロン新生・海馬・概日時計

1. 研究開始当初の背景

中枢神経系を構成するニューロンの多くは胎生期に誕生するが、成体においても新しいニューロンは恒常的に産み出され続けている。このような成体ニューロン新生はヒトを含む哺乳類に共通した現象であり、海馬歯状回や側脳室下帯などの限られた脳領域において観察できる（図1参照）。近年、アル

ツハイマー病、うつ病、総合失調症などの患者の脳内で、海馬新生ニューロンの数が増加もしくは減少している可能性が示唆されるなど、正常な脳機能と海馬ニューロン新生との連関が指摘されている。従来の研究より、海馬のニューロン新生は、記憶の形成や情動の制御などの役割が示唆されているが、その生理的役割については不明な点が多い。成体

ニューロン新生は、神経系疾患に対する再生治療という観点から、社会的にも注目されており、この成体ニューロン新生の制御機構や生理的役割を明らかにすることは、極めて重要な課題である。

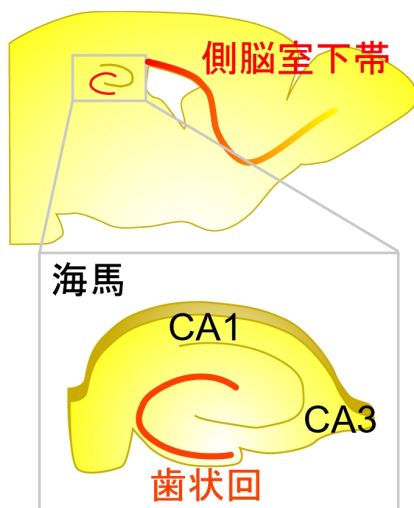


図1 成体ニューロン新生の観察される脳部位

2. 研究の目的

私共は最近、マウス成体の海馬歯状回においてニューロン新生が昼に低下し、夜に増加するという日内変動を示すことを見出した。生体内の様々な生理現象は24時間周期の日内変動を示し、この概日リズムは体内に存在する概日時計によって生み出される。このことから、海馬ニューロン新生も概日時計によってコントロールされていると推定できる。興味深いことに、概日時計機能および海馬ニューロン新生はいずれも、うつ病や双極性障害（躁うつ病）などの気分障害と関連していることが推定されている。特に、正常な概日時計機能は情動の安定化に大きく寄与しており、気分障害の患者の多くには概日リズムの異常が観察されること、また概日時計機能に異常を示す変異マウスは躁うつ病における躁状態と極めて似た表現型を示すことが知られる。一方、うつ病のモデル動物において海馬ニューロン新生が減少することや、気分障害の治療薬（mood stabilizer や anti-depressant）の投与によりニューロン新生が増加するなどの報告があり、海馬ニューロン新生と気分障害との繋がりが推測されている。『概日時計が海馬ニューロン新生を制御する』という興味深いアイデアを基にして私共は、概日時計、海馬ニューロン新生、

および情動の安定化という三者が互いに相互関連しているのではないかと考えている。そこで本研究では、海馬ニューロン新生の日内変動を精査すると共に、この現象が概日時計によって駆動されている可能性を検討する。さらに、海馬ニューロン新生を抑制した場合に、情動が変化するか否かを調べ、概日時計、ニューロン新生、および情動の連関に迫る。

3. 研究の方法

海馬ニューロン新生のリズムを調べるため、野生型マウスを明期12時間・暗期12時間の明暗サイクル下で飼育し、様々な時刻において脳を単離する。さらに、海馬歯状回におけるM期細胞数（リン酸化ヒストンH3陽性細胞）を計数して、分裂中の神経幹細胞の数が日内変動するか調べた。また、マウスの情動は、オープンフィールドテストおよびelevated plus maze テストによって調べた。

4. 研究成果

私共はこれまで、以下のように実験手法を工夫することによって海馬ニューロン新生の時刻依存性を明らかにしてきた。つまり、野生型マウス（C57BL6）を明期12時間・暗期12時間の明暗サイクル下で飼育し、様々な時刻において脳を単離して解析すると、海馬歯状回においてM期細胞数（リン酸化ヒストンH3陽性細胞）が暗期に増加し、明期に低下した。一方、様々な時刻にBrdUをパルス投与してS期細胞数をラベルした場合、BrdU陽性細胞数（S期細胞数）は明暗を問わず一定であった。このことから、海馬歯状回の神経前駆細胞は、昼夜を問わずS期に進行して通過するが、昼にはM期への進行が停滞し、夜に活発にM期へと進行すると考えられた。さらに、暗期に生み出される神経細胞数を解析するため、暗期の初めにBrdUを投与して暗期の終わりに脳を単離した。そこで、暗期にS期を通過した細胞（BrdU陽性細胞）の中で神経細胞へと分化した細胞（幼弱ニューロンのマーカーで検出）を計数すると、明期に同様の解析をした場合と比較して、神経分化した細胞が顕著に増加した。このことから、細胞分裂中の神経前駆細胞は、暗期にM期へと進行して神経分化することが判明した。

本研究ではまず、同様の実験手法を用いて、C57BL6以外の系統のマウスにおいても、同様のニューロン新生リズムが観察できるか確かめた。その結果、Balbc系統のマウスやICR系統のマウスなど、様々な種類のマウスにおいて同様の海馬ニューロン新生のリズムが観察できた。このことから、海馬ニューロン新生リズムは、遺伝的な背景によらず、

一般的な現象である事が示唆された。そこで、生体内に存在する概日時計が海馬ニューロン新生の時刻依存性を生み出しているか否か調べた。概日時計機能はほぼ全身の組織に存在し、間脳の視交叉上核に存在する概日時計が主時計として働いて全身の時計を駆動するという階層構造をとる。また近年の精力的な解析により、概日時計の発振機構も分子レベルで調べられており、主要なコンポーネントは明らかになっている。Clock 蛋白質は概日時計の発振に必須の転写因子であり、Clock 蛋白質の C 末端部分（転写活性化ドメイン）を欠損した変異マウスは概日時計機能に異常を示す。そこで、Clock 変異マウスを明期 12 時間・暗期 12 時間の明暗サイクル下で飼育し、様々な時刻において脳を単離して解析した。その結果、夜間における M 期細胞数の亢進が観察できず、M 期細胞数は一日を通してほぼ一定であった。このことから、海馬ニューロン新生の日内変動は概日時計によって駆動されていることが示された。

先行研究から、Clock 変異マウスは恒常的な躁状態にあることから、海馬のニューロン新生のリズムが失われることによって、情動に変化が生じた可能性が考えられる。そこで、海馬ニューロン新生と情動との関連を調べた。従来より、海馬ニューロン新生を阻害するため、MAM などの薬剤が用いられている。この薬剤は、分裂中の細胞に取り込まれ、細胞分裂を阻害することによって細胞死を引き起こす。そこで、野生型マウスに 1 週間 MAM を皮下注射によって投与し、その後、マウスの情動を調べた。その結果、マウスの情動が大きく変化することを見出した。

本研究により、海馬ニューロン新生が情動に影響を及ぼすこと、さらに、概日時計が海馬ニューロン新生をコントロールすることが明らかになった。従来より、概日時計が情動をコントロールしていることが示唆されている。このことを考え合わせると、概日時計による海馬ニューロン新生のリズム形成が、情動の制御に重要である可能性が示唆できた。つまり、概日リズムの異常によって、海馬ニューロン新生リズムが失われると、気分障害が発症する可能性が示唆できた。本研究は、概日時計による情動の制御について、その仕組みの理解に多いに役立つ。また、双極性障害などの気分障害が発症する仕組みの理解を前進させると考えられる。

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 Naoyuki Asada, Kamon Sanada, LKB1-mediated spatrial control of GSK3 β and adenomatous polyposis coli contributes to centrosomal forward movement and neuronal migration in the developing neocortex. Journal of Neuroscience. 査読有、30, 8852-8865 (2010) DOI:10.1523/JNEUROSCI.6140-09.2010
- ② Nobuhiro Kurabayashi, Tsuyoshi Hirota, Mihoko Sakai, Kamon Sanada, and Yoshitaka Fukada, DYRK1A and GSK-3 β : A dual kinase mechanism directing proteasomal degradation of CRY2 for circadian timekeeping. Mol. Cell. Biol. 査読有、30, 1757-1768 (2010) DOI:10.1128/ MCB.01047-09

[学会発表] (計 5 件)

- ① 内藤泰樹、浅田直之、眞田佳門、Role of AMP-activated protein kinase in neuronal migration in the developing neocortex、International Symposium “Neocortical Organization”、2012年3月12日、愛知県岡崎市
- ② 眞田佳門、浅田直之、内藤泰樹、Centrosomal forward movement in migrating neocortical neurons is mediated by LKB1-GSK3 β -APC pathway、第34回日本分子生物学会年会、2011年12月16日、神奈川県横浜市
- ③ 眞田佳門、Role of polarity protein LKB1 in neuronal migration、第34回神経科学大会、2011年9月16日、神奈川県横浜市
- ④ 浅田直之、眞田佳門、LKB1-mediated control of GSK3 β and APC regulates centrosomal forward movement and neuronal migration、Neuroscience 2010、2010年11月14日、San Diego

Convention Center (米国)

- ⑤ 浅田直之、眞田佳門、
神経細胞移動にお
いて LKB1-GSK3 β -APC シグナリングは中
心体の前方移動を制御する、Neuro2010、
2010年9月3日、神戸コンベンショ
ンセンター (兵庫県)

[その他]

ホームページ等

<http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/mgr1/sanada/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

眞田 佳門 (YOSHIKADO SANADA)

東京大学・大学院理学系研究科・准教授

研究者番号：50431896

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし