

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 10 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23570282

研究課題名(和文) 霊長類脳部位特異的転写因子の発現解析

研究課題名(英文) Gene expression of transcription factors in the central nervous system of primates

研究代表者

大石 高生 (Oishi, Takao)

京都大学・霊長類研究所・准教授

研究者番号：40346036

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円、(間接経費) 1,260,000円

研究成果の概要(和文)：マカクの脳内では、老化にともなって炎症反応、免疫反応に関わる遺伝子群の発現は増加し、ミトコンドリア機能やシナプス伝達に関わる遺伝子群の発現は低下していた。ヒトでは老化によってミトコンドリア機能の強化、再髄鞘化を示唆する遺伝子発現増加があり、マカクではミトコンドリア機能の低下、脱髄を示唆する遺伝子発現減少が見られた。

新皮質は、海馬と共通する遺伝子発現以外に、新皮質固有の遺伝子発現を付加していることが明らかになった。髄鞘化の過程で増加または減少するような発現変動をする転写因子遺伝子は存在しなかった。髄鞘化の程度に関わる転写因子はエストロゲンによって調節を受けるパスウェイに属するものが多かった。

研究成果の概要(英文)：Aging brought about increase in expression of immunity-related genes and decrease in expression of mitochondria- and synaptic transmission-related genes in the neocortex and the hippocampus of macaque monkeys. Gene expressions suggest that enhancement of mitochondrial function and remyelination occur in the human brain and deterioration of mitochondrial function and demyelination occur in the macaque brain.

In the macaque neocortex, neocortex-specific gene groups were expressed in addition to gene expressions in common with the hippocampus. There were no genes of transcription factor whose expression was in concordance with the process of myelination or demyelination. Estrogen and related substances may regulate gene expressions of transcription factors, whose expression was in concordance with the degree of myelination.

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：人類学・自然人類学

キーワード：大脳皮質 小脳 大脳基底核 海馬 発達 DNAマイクロアレイ



(2) マカクの中枢神経系 10 部位の全てにおいて、0 歳、1 歳、7 歳の生後発達 3 段階で有意に発現量が変動した遺伝子は約 1 千個(5%)であった。10 部位全部で共通して変動(増加あるいは減少)した遺伝子は 32 個、大脳新皮質 7 領域では共通して変動し、小脳や大脳基底核、海馬で変動しなかった遺伝子は 26 個であった。共通した機能等を有する複数の遺伝子をまとめた遺伝子セット単位で発現量の変動を分析する GSEA 解析を適用した結果、発達のどの段階においても大脳新皮質の方が海馬よりも多く発現している遺伝子セットはあったが、海馬の方が大脳新皮質よりも多く発現している遺伝子セットはなかった。新皮質は、海馬と共通する遺伝子発現以外に、新皮質固有の遺伝子発現を付加していることが明らかになった。新皮質 7 領域間の遺伝子発現の差異は、幼若期には小さく、成体で最大となった。この傾向は、一次視覚野と連合野の間で最大であった。一次視覚野では成体になると発現が減少する遺伝子セットが多く、連合野では成体になると発現が増大する遺伝子セットが多かった。

461 個の転写因子遺伝子に関して、髄鞘化

		Areas	
		SM	AS
Age	0y	Middle	Low
	Ad	High	Middle

ESRRG, NFIA, MEOX2,  
UBP1, TLX2, TFDP2

高度に髄鞘化した状態で  
発現量の多い転写因子遺  
伝子

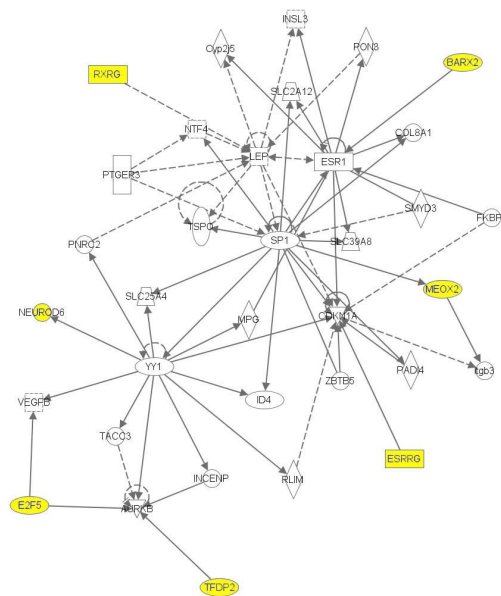
		Areas	
		SM	AS
Age	0y	Middle	High
	Ad	Low	Middle

BARX2, NEUROD6, E2F5,  
LOC708399, RXRG

髄鞘化の程度が低い状態  
で発現量が多い転写因子  
遺伝子

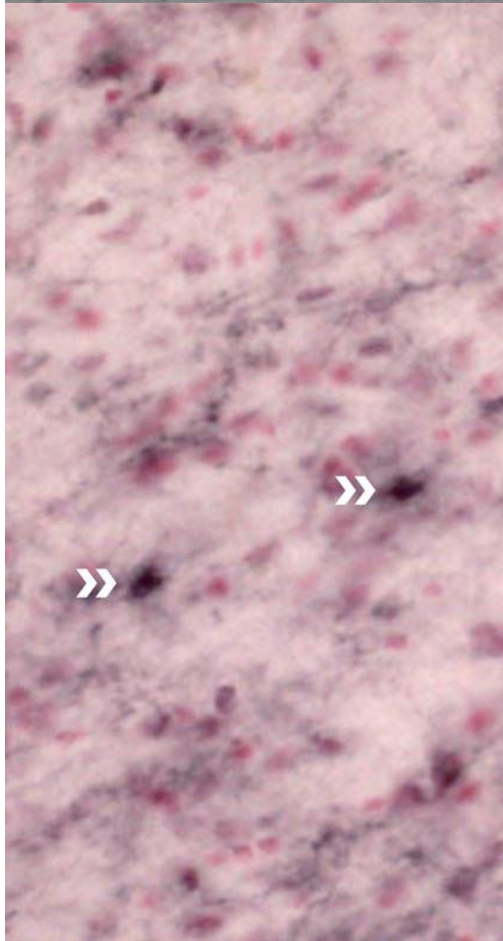
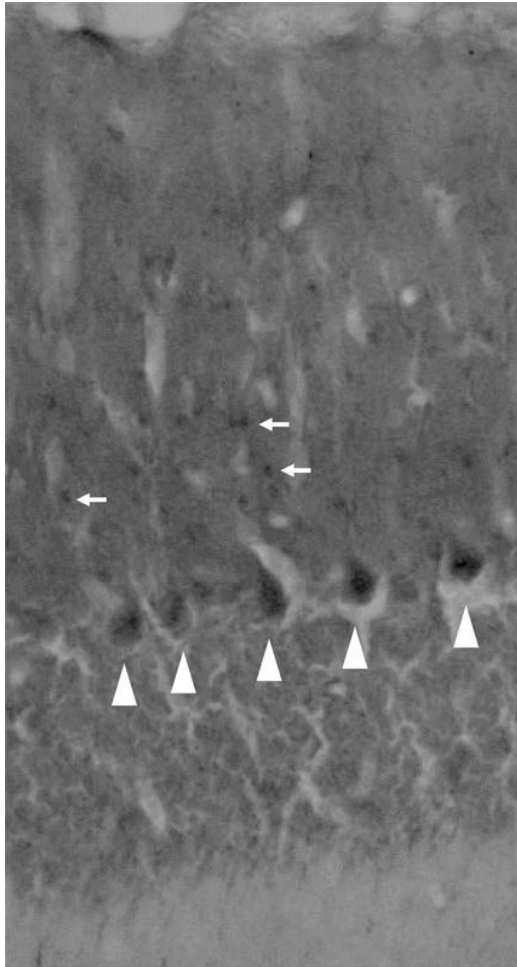
時期の早い新皮質領野、遅い新皮質領野での発達様式を検討した。髄鞘化の結果を反映する転写因子遺伝子は 11 個(高度に髄鞘化している状態が多いもの 6 個、少ないもの 5 個)あったのに対し、髄鞘化の過程で増加しないしは減少するような発現変動をする転写因子遺伝子は存在しなかった。

(3) 髄鞘化の程度と発現量が相関する 11 個の遺伝子を起点としてパスウェイ解析を行った。11 個中 7 個の転写因子が関わるパスウェイとして、図に示すものが浮上した。このパスウェイの中心的な遺伝子としては、ESR1、LEP、SP1、YY1、CDKN1A、AURKB が挙げられる。このパスウェイの機能を現段階で推測することは難しいが、既にニューロンの細胞分裂は完了している発達段階にも関わらず、細胞分裂や細胞周期に関わる分子が多数含まれていることから、分裂細胞であるグリア細胞での発現が想定され、発現の部位および発達段階特異性と合致する。さらに、核内受容体であるエストロゲン受容体 やファミリー分子であるエストロゲン関連受容体 がこのパスウェイに含まれており、これはエストロゲンの急激な低下が見られる老化過程においてマカクでは脱髄を示唆する遺伝子発現変化が見られた(1)の結果とも合わせ、エストロゲンおよび関連分子の髄鞘化に対する影響が大きいことを示唆している。



髄鞘化の程度と発現量が相関する転写因子遺伝子11個を起点としたパスウェイ解析の結果

髄鞘化の程度が低い状態で発現量が多い(成熟するにつれて発現が減少し、また感覚運動野よりも連合野で発現量が多い)転写因子である NEUROD について免疫組織化学法を用いて、発現細胞を確認した。小脳皮質では、プルキンエ細胞(矢尻)とバスケット細胞(矢印)に顕著な発現が見られた。大脳皮質では、灰白質には発現が低く、特に白質のグリア細胞(二重矢尻)で顕著な発現が見られた。



髄鞘化の程度が高い状態で発現量が多い(成熟するにつれて発現が増加し、また連合野よりも感覚運動野で発現量が多い)転写因子であるレチノイン酸受容体 (RAR)やプレグナン X 受容体(PXR)についても免疫組織化学法を用いて、発現細胞を確認した。いずれの分子種も発現量が少なく、現在用いている系では、弱い発現しか見られなかった。発現細胞はニューロンおよびグリア細胞であった。ニューロンに関しては、小型から中型のものに非常にまばらに弱い発現が見られるのみで、はっきりとした層別の分布の差異はなかった。グリア細胞は特に白質で観察された。

##### 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 9件)

Nagano M, Oishi T, Suzuki H, Distribution and pharmacological characterization of primate NK-2 tachykinin receptor in the central nervous system of the rhesus monkey, *Neurosci Letters*, 査読有, 503 巻, 2011, 23-26. 10.1016/j.neulet.2011.07.057.

Higaki S, Takumi K, Itoh M, Watanabe G, Taya K, Shimizu K, Hayashi M, Oishi T. Response of ER and aromatase expression in the monkey hippocampal formation to ovariectomy and menopause. *Neurosci Research*, 査読有, 72 巻, 2012, 148-154. 10.1016/j.neures.2011.10.007.

Kojima T, Higo N, Sato A, Oishi T, Nishimura Y, Yamamoto T, Murata Y, Yoshino-Saito K, Onoe H, Isa T, Functional annotation of genes differentially expressed between primary motor and prefrontal association cortices of macaque brain, *Neurochemical Research*, 査読有, 38, 2013, 133-14. 10.1007/s11064-012-0900-4.

Yamamoto T, Oishi T, Higo N, Murayama S, Sato A, Takashima I, Sugiyama Y, Nishimura Y, Murata Y, Yoshino-Saito K, Isa T, Kojima T, Differential Expression of Secreted Phosphoprotein 1 in the Motor Cortex among Primate Species and during Postnatal Development and Functional Recovery, *PLoS One*, 査読有, 8, 2013, 1-13. 10.1371/journal.pone.0065701.

[学会発表](計 14件)

伊佐正、小島俊男、肥後範行、大石高生、尾上浩隆、マカクザル運動関連皮質領野における遺伝子発現のマイクロアレイ法による網羅的解析, 第 34 回日本神経科学大会, 2011 年 9 月 17 日, 横浜.

杉山容子, 大石高生, 山下 晶子, 村田弓,

山本竜也, 伊佐 正, 肥後範行, 健常及び運動皮質損傷マカクサルにおける SPP1 の局在の違い, 第 35 回日本神経科学大会名古屋市学会, 2012 年 09 月 18 日, 名古屋.

大石高生, 佐藤明, 檜垣小百合, 近藤伸二, 小島俊男, サル中枢神経系の遺伝子発現の発達の部位間比較, 第 35 回日本神経科学大会名古屋市学会, 2012 年 09 月 20 日, 名古屋.

T. Kojima, N. Higo, A. Sato, T. Oishi, Y. Nishimura, T. Yamamoto, Y. Murata, K. Yoshino-Saito, H. Onoe, T. Isa, Gene network analysis of genes differentially expressed between primary motor and prefrontal association cortices of macaque brain, Neuroscience 2012, 2012 年 10 月 17 日, New Orleans, USA.

大石高生, 佐藤明, 檜垣小百合, 近藤伸二, 小島俊男, マカク中枢神経系の遺伝子発現の発達変化の解析, 第 59 回中部日本生理学会, 2012 年 11 月 16 日, 岡崎.

Takao Oishi, Sayuri Higaki, Akira Sato, Shinji Kondo, Toshio Kojima, Gene expression of the transcription factors in the monkey cerebral cortex during postnatal development, 第 91 回日本生理学会大会, 2014 年 3 月 18 日, 鹿児島.

〔その他〕

ホームページ等

<http://kyouindb.iimc.kyoto-u.ac.jp/j/g19wX>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

大石 高生 (OISHI, Takao)

研究者番号 : 40346036