

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 6月11日現在

機関番号：84203  
 研究種目：若手研究（B）  
 研究期間：2011～2012  
 課題番号：23790350  
 研究課題名（和文） Notch シグナルによるドパミンシステム制御に関与する神経回路の解明  
 研究課題名（英文） The neural circuit for dopaminergic system regulation by Notch signaling.  
 研究代表者  
 谷垣 健二 (Tanigaki Kenji)  
 滋賀県立成人病センター 研究所・専門研究員  
 研究者番号：70362473

研究成果の概要（和文）：Notch/RBP-J シグナルは神経幹細胞の維持をはじめ、神経発生を多段階で制御するが、我々は、Notch シグナルの主要な伝達因子 RBP-J がドパミン反応性制御に関与することを見出した。蛍光蛋白質である GFP の変異体である Venus を用いて Notch シグナルを可視化することによって、ドパミン反応性制御における RBP-J の作用部位の同定を試みた。

研究成果の概要（英文）：Notch/RBP-J signaling regulates neural development at multiple stages. We utilized RBP-J conditional knockout mice and found that neuron-specific loss of RBP-J, a main mediator of Notch signaling, causes the deficits in the dopaminergic responsiveness. To elucidate which neural circuit is responsible for Notch -dependent control of Dopaminergic signaling, we examined the sites of Notch signaling activation in the central nervous system.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・医化学一般

キーワード：高次生命医学

## 1. 研究開始当初の背景

Notch シグナルは神経系、造血系をはじめとし、様々な細胞の運命決定を制御すると同時に、側方抑制のメカニズムを通じてパターン形成に関与することが知られている。Notch シグナルに異常が起こると発生自体が多大な影響を受け胎生致死となるため、現在に至るまで成体神経機能における Notch シグナルの役割はほとんど解析されていなかった。Drosophila を用いた解析においては温度感受性 Notch 変異体

が存在するため、Notch シグナルが軸索の伸展や、抹消感覚器の感受性という末梢神経の機能に影響を与えること、成体で神経特異的に Notch の機能を不活化すると行動異常が出るということが報告されている。哺乳動物においても in vitro の実験では Notch シグナルが神経細胞の樹状突起の形態に影響を与えうることが報告されており、樹状突起の形態が神経細胞が行う情報処理過程に大きな影響を与えうること

を考え合わせると、生体内において Notch シグナルが哺乳動物の神経細胞の機能を調節することが期待されていた。我々は、Notch シグナルの重要な伝達因子である RBP-J の floxed mice を樹立し、組織特異的に Cre を発現した transgenic mice と掛け合わせることで、組織特異的、発生段階特異的に RBP-J を欠損させ、その機能を解析することが可能であることをリンパ球の系を用いて明らかにしてきた (Tanigaki K, et al. Nat Immunol. 2007;8:451-6, Tanigaki K, et al. Immunity. 2004;20:611-22, Tanigaki K, et al. Nat Immunol. 2002;3:443-50.)。我々は、この RBP-J floxed mice を用い、CamKII-cre transgenic mice と掛け合わせることで成熟神経細胞特異的に Notch シグナルを伝える主要な転写因子である RBP-J を欠損させ、Notch/RBP-J シグナルの神経特異的欠損が生体内で神経機能に与える影響を網羅的行動学的解析によって検討を行なった。その結果、RBP-J が嫌悪学習に重要な役割を果たしており、その作用はドパミン反応性の制御を介していることを見出した。

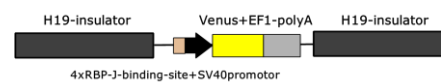
## 2. 研究の目的

RBP-J による転写活性化や、転写抑制を蛍光蛋白質 (GFP/Venus) で可視化できるマウスを樹立し、これらのマウスを用いることによって、RBP-J を介した転写活性化や転写抑制が認められる神経回路網、神経細胞種を同定し、RBP-J によるドパミン反応制御に関与する部位を同定する。

## 3. 研究の方法

Notch シグナルの活性化状態を可視化するために、SV40 promoter というそ

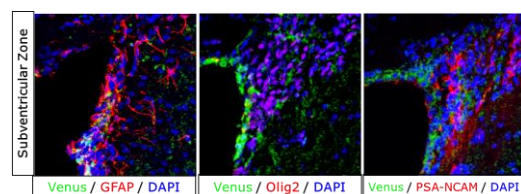
れだけで Venus の発現を誘導できるプロモーターに RBP-J 結合サイトをタンデムにつなぐことによって、RBP-J の転写活性化と転写抑制能を可視化できる可能性がある Notch レポーター コンストラクトを作製した。さらにこのレポーター コンストラクトが、ゲノムに挿入される際の挿入部位の影響を受けにくくするため、両端に insulator を付加し、Notch シグナルレポーター-transgenic mice の作製を行った。



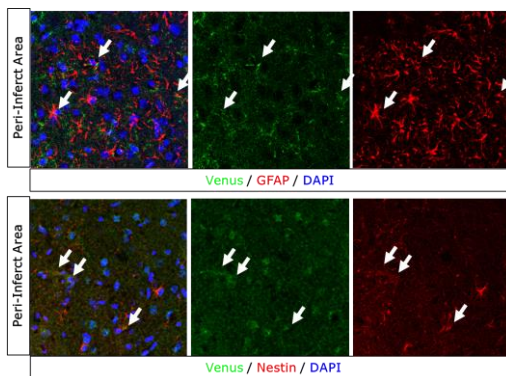
## Notch シグナルの活性化を検出するためのレポーター遺伝子

## 4. 研究成果

この Notch シグナルレポーターマウスでは、胎児期の神経新生における Notch シグナルを可視化できるだけでなく、成体の脳室周囲に残存する神経新生、及び、脳虚血時のグリオシスの過程においても Notch シグナルの活性化を蛍光蛋白質 Venus で可視化できることを明らかにした (Marumo T, Takagi Y, Muraki K, Hashimoto N, Miyamoto S, [Tanigaki K](#), Neurosci Res. 2013 Feb 7)。



成体脳室下帯における神経新生で認められる Notch 活性化



脳梗塞に伴うグリオシスで認められる  
Notch 活性化

嫌悪学習、ドパミン依存性学習には、線条体、側坐核、腹側被蓋野、扁桃体が必須となることが知られている。そこで、我々は、嫌悪学習前、後における蛍光蛋白質 Venus の発現が中枢神経系の神経細胞に認められないか、これらの領域を重点的に検討を行った。しかし、神経細胞でのレポーター Venus の発現は、免疫組織化学によっても検出できなかった。このことは、神経細胞における Notch シグナルの活性化レベルが、神経発生時と比較して顕著に低いか、レポーターマウスの作製に用いたエンハンサーエレメントが神経細胞における Notch シグナルの検出には不十分であることを示唆している。

また、嫌悪学習における Notch シグナルの分子機構を解明するため、成熟神経細胞特異的 RBP-J conditional knockout mice を用いて、マイクロアレイ解析をおこなった。その結果、ドパミンシグナルに関与する遺伝子群の発現が変化していることを見出した。

##### 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 5 件)

Notch signaling regulates the development of a novel type of T hyl-expressing dendritic cell in the thymus.

Ishifune C, Maekawa Y, Nishida J, Kitamura A, Tanigaki K, Yagita H, Yasutomo K.  
Eur J Immunol. 2011 May;41(5):1309-20.

Selective overexpression of Comt in prefrontal cortex rescues schizophrenia-like phenotypes in a mouse model of 22q11 deletion syndrome.  
Kimoto S, Muraki K, Toritsuka M, Murgikura S, Kajiwara K, Kishimoto T, Illingworth E, Tanigaki K.  
Transl Psychiatry. 2012 Aug 7;2:e146. doi: 10.1038/tp.2012.70.

Alterations of social interaction through genetic and environmental manipulation of the 22q11.2 gene Sept 5 in the mouse brain.

Harper KM, Hiramoto T, Tanigaki K, Kang G, Suzuki G, Trimble W, Hiroi N. Hum Mol Genet. 2012 Aug 1;21(15):3489-99. Epub 2012 May 15.

Localization of septin proteins in the mouse cochlea. Yoshida A, Yamamoto N, Kinoshita M, Hiroi N, Hiramoto T, Kang G, Trimble WS, Tanigaki K, Nakagawa T, Ito J. Hear Res. 2012 Jul;289(1-2):40-51.

Notch signaling regulates nucleocytoplasmic Olig2 translocation in reactive astrocytes differentiation after ischemic stroke.

Marumo T, Takagi Y, Muraki K, Hashimoto N, Miyamoto S, Tanigaki K.  
Neurosci Res. 2013 Feb 7 [Epub ahead of print]

[学会発表] (計 4 件)

谷垣健二

Neuropathological analysis of 22q11.2 deletion syndrome model mice.  
第34回 神経科学学会大会 2011年9月17日 (14日-17日) 横浜

Kenji Tanigaki

Behavioral Analysis of Neuron-specific RBP-J knockout mice. The N

otch Meeting 2011年10月5日 (2-6日)  
Greece

Kenji Tanigaki

Neuropathological analysis of 22q11.2 deletion syndrome model mice.

The 32nd Naito Conference on Biological basis of mental functions and disorders 2011年10月19日 (18日-21日) 八ヶ岳

Kenji Tanigaki

Rescue of behavioral abnormalities of 22q11.2 deletion syndrome model mice by prefrontal cortex-specific COMT overexpression. 第35回神経科学会 2012年9月18-21日 名古屋

[その他]

<http://www.shigamed.jp/divisions/neuron.html>

6. 研究組織

谷垣 健二 (Tanigaki Kenji)

滋賀県立成人病センター 研究所

・ 専門研究員

研究者番号 : 70362473