

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10日現在

機関番号：15101
 研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2011～2012
 課題番号：23791348
 研究課題名（和文）
 ：統合失調症モデルとしてのオリゴデンドロサイト障害マウスの検討
 研究課題名（英文）：The relationship between oligodendrocyte loss in the juvenile period and the onset of schizophrenia.
 研究代表者
 山内 崇平（YAMAUCHI TAKAHIRA）
 鳥取大学・医学部・助教
 研究者番号：20550817

研究成果の概要（和文）：

統合失調症の発症にオリゴデンドロサイトの障害が関与するかを検討するために、オリゴデンドロサイトの分化に重要な Olig2 に注目した。幼若期の臨界期にのみ Olig2 の発現量を減弱させることのできるトランスジェニックマウスを用いて実験を行った。

行動実験では明らかな有意差はみられず、ウェスタンブロットにおいても有意な差を認めなかった。問題点として、本実験系においてはトランスジェニックマウスにおける組み換えが十分に起こっていない点が考えられた。

研究成果の概要（英文）：

We hypothesized that oligodendrocyte loss in the juvenile period may influence the onset of schizophrenia, and we focused on the function of Olig2, play an important role in the differentiation of oligodendrocyte. To test the hypothesis, we used double transgenic mice, which can reduce the expression of Olig2 in the juvenile period.

The results were that there have not significant differences in our experimental status. We thought that the double transgenic mice were not performed sufficient recombination in our experimental status.

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	2,500,000	750,000	3,250,000

研究分野：医師薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・精神神経科学

キーワード：(1) 統合失調症 (2) Olig2

1. 研究開始当初の背景

統合失調症は思春期以降に発症すること

が多く、遺伝的要因に環境要因が加わって発症するという、two hit hypothesis が提唱さ

れている。その病態には、死後脳所見や頭部MRI 拡散テンソル画像所見において、オリゴデンドロサイトの異常が多く報告されている (Kanaan et al, Biol Psychiatry, 2005; Tkachev, Lancet, 2003)。我々はこれまでに統合失調症の動物モデルにおけるオリゴデンドロサイトの機能低下を報告してきた (Makinodan et al, J Neurosci Res, 2008; Makinodan et al, Neurochem Int, 2008)。Corfas らはオリゴデンドロサイト特異的に Neuregulin-erbB シグナルを減弱させることで、オリゴデンドロサイトの機能を障害したマウスの脳では、低ミエリン化が起こっており、統合失調症様の行動異常を呈することを報告している (Roy et al, Proc Natl Acad Sci, 2007)。

また、Strittmatter らは視覚野の可塑性には臨界期におけるオリゴデンドロサイトの働きが重要であること、他の脳領域でも同様である可能性があることを報告している (McGee et al, Science, 2005)。

転写因子である Olig2 は、成体マウスでは、オリゴデンドロサイト前駆細胞や成熟オリゴデンドロサイトや神経前駆細胞などに主に発現している。これらの細胞群がマウス大脳皮質内の神経回路機能を修飾することは明らかとなっているが、これらの細胞群の変化、異常が行動に与える影響については不明である。

これらのことから幼若期の臨界期におけるオリゴデンドロサイトの働きが、統合失調症で異常が報告されている前頭葉、海馬、扁桃体などで重要ではないかと仮説を立てた。そこで、幼若期の臨界期にのみ Olig2 の発現量を減弱させることのできるコンディショナルトランスジェニックマウスを作成し研究を開始した。

2. 研究の目的

幼若期の臨界期におけるオリゴデンドロサイトの働きが、統合失調症で異常が報告されている前頭葉、海馬、扁桃体などで重要な働きをしているのではないかと考え、幼若期の臨界期にのみ Olig2 の発現量を減弱させることのできるコンディショナルトランスジェニックマウスを作成し、統合失調症の発症と前頭葉、海馬、扁桃体などにおけるオリゴデンドロサイトの障害との関係について検討した。

平成 23 年度は、マウスでミエリンが形成される幼若期の臨界期にタモキシフェンを投与し、Olig2 の発現量を減弱させ、成体での行動変化やミエリンについて調べる。これらの解析により、幼若期におけるオリゴデンドロサイトの障害と、成体で引き起こされる

行動変化やミエリンの変化との関連性を検討する。また、前頭葉、海馬、扁桃体などに脳定位固定装置を用いて定量的にタモキシフェンを投与し、部位特異的に Olig2 を減弱させ同様の解析を行う。これらにより脳各部位での Olig2 の働きを検討する。

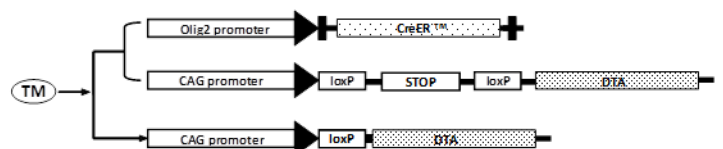
平成 24 年度には、幼若期に Olig2 を減弱させることに加えて、成熟期に水浸拘束ストレスなどのストレスを与えることで、どのような行動変化やミエリンの変化が出現するかについて検討する。これらの解析で、統合失調症で提唱されている two hit hypothesis の傍証となりうるかを検討する。

3. 研究の方法

(1) 幼若期の臨界期に特異的に Olig2 の発現量を減弱させるために、転写因子 Olig2 のプロモーター下流にタモキシフェン (TM) 依存性 Cre リコンビナーゼが配置された

“Olig2-CreERTMマウス” と、CAG プロモーター下流に Cre リコンビナーゼ反応性配列 loxP と diphtheria toxin A (DTA) が配置された “CAG-loxP-DTAマウス” を交配させたダブルトランスジェニックマウス (Olig2 発現細胞特異的細胞死誘導マウス) を作成し、Olig2 陽性細胞において時期特異的に組み換えを誘導することを試みた。

このマウスはタモキシフェン存在下で Olig2 発現細胞が DTA によって死に至るというシステムである。

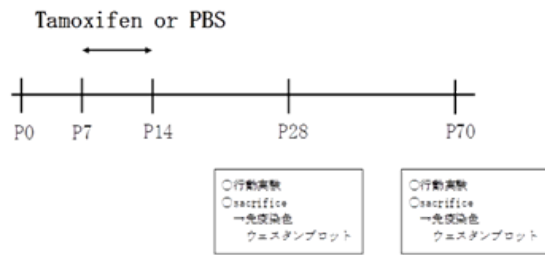


(2) 平成 23 年度には、上記の Olig2 発現細胞特異的細胞死誘導マウスの生後 7 日 (P7) から P14 に、タモキシフェン (100mg/kg) を 1 日 2 回腹腔内投与する。コントロール群には PBS を腹腔内投与する。その後、P28 及び P70 に行動実験 (オープンフィールドテスト、プレパルスインヒビションテスト、高架式十字迷路テスト、モリス水迷路テスト、Y 字迷路テスト、パッシブアボイダンステスト) を行う。行動実験終了後、脳を摘出し、前頭葉、海馬、線条体、扁桃体のオリゴデンドロサイト関連因子 (MBP、Olig2、NG2、SOX10) の発

現量を免疫染色法、ウェスタンブロット法により測定する（図1）。

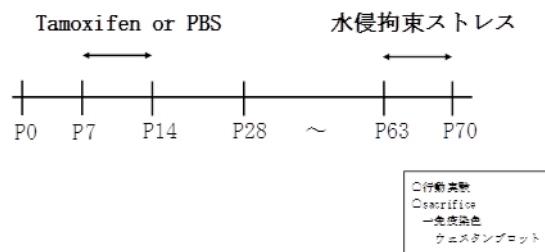
また、前頭様、海馬、扁桃体などに脳定位固定装置を用いて定位的にタモキシフェンを投与し、部位特異的にOlig2を減弱させ同様の解析を行う。

(図1)



(3) 平成24年度は同様のトランスジェニックマウスを用いて実験を行い、幼若期にOlig2を減弱させることに加えて、P63からP70に1日2時間水浸拘束ストレスを与える。その後、同様の行動実験を行い、脳を摘出する。そして、免疫染色法、ウェスタンブロット法を行い、前頭葉、海馬、線条体、扁桃体のオリゴデンドロサイト関連因子(MBP、Olig2、NG2、SOX10)の発現量を解析する(図2)。

(図2)



4. 研究成果

行動実験では明らかな有意差はみられず、ウェスタンブロットにおいても有意な差を認めなかった。問題点として、本実験系においてはトランスジェニックマウスにおける

組み換えが十分に起こっていない点が考えられた。今後は十分に組み換えを起こし、十分にOlig2を減弱させるための検討が必要と考える。具体的には、cuprizone等の薬剤を同時に投与し、Olig2の発現量の差異を大きくすることで、再度、統合失調症とオリゴデンドロサイトの障害との関係について検討していきたいと考えている。

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)

なし。

[雑誌論文] (計0件)

[学会発表] (計0件)

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

[その他]

ホームページ等

鳥取大学 (新規に作成中)

<http://neuropsychiatry.med.tottori-u.ac.jp/>

奈良県立医科大学

<http://www.naramed-u.ac.jp/~psy/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山内 崇平 (YAMAUCHI TAKAHIRA)

鳥取大学・医学部・助教

研究者番号：20550817

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし

(4)研究協力者

井川 大輔 (IKAWA DAISUKE)
奈良県立医科大学・医学部・大学院生

廣田 直也 (HIROTA NAOYA)
奈良県立医科大学・医学部・大学院生