

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25年5月10日現在

機関番号：12602

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2011～2012

課題番号：23890049

研究課題名（和文）ストレスシグナル欠損マウスを用いた毒性金属・放射線による病態発症機序の解明

研究課題名（英文）Elucidation of the mechanism of toxic metal and radiation-induced disease onset using stress signaling-deficient mice

研究代表者

岩月 麻美子（IWATSUKI MAMIKO）

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・特任助教

研究者番号：10609689

研究成果の概要（和文）：*Mkk7^{lox/flox} Synapsin-Cre* マウスを作成し、メチル水銀を曝露した。脳内の神経細胞の増殖と細胞死について Nissl 染色による神経細胞のカウント、BrdU による増殖アッセイを行い、細胞死について TUNEL 染色、活性化 Caspase3 の免疫染色によって観察を行っている。さらにノックアウトマウスの脳・脊髄を用いてマイクロアレイ解析を行い、その遺伝子変動をパスウェイ解析によって網羅的に解明している。

研究成果の概要（英文）：*Mkk7^{lox/flox} Synapsin-Cre* mice were made and exposed with methyl mercury. To examine cell proliferation and apoptosis of brain neurons, we did Nissl stain, BrdU incorporation, TUNEL and active Caspase stains. Furthermore, we did cDNA microarray of the knockout mice. We are now analyzing these results.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2012年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,500,000	750,000	3,250,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：衛生学

キーワード：環境中有害物質、毒性金属、ノックアウトマウス、ストレスシグナル、メチル水銀、カドミウム、マイクロアレイ、パスウェイ解析

1. 研究開始当初の背景

環境中有害物質による臓器障害の分子メカ

リズムは未だ明らかになっていない。この分子メカニズムの解明は、有害物質曝露で生じる疾患に対する新たな治療戦略への助けとして期待される。

2. 研究の目的

毒性金属や現在社会問題になっている電離放射線による、ストレス応答性シグナルの影響を検討し、その毒性的意義を解明することを目的とする。

3. 研究の方法

ストレス応答性キナーゼ MKK7 は MAP キナーゼ JNK の活性化因子であり、多様な細胞応答を制御する。これまで、研究者の所属するグループでは、*Nestin-Cre* によって神経幹細胞で *mkk7* を欠損するマウスを作出し、胎仔脳における MKK7 の機能が出生後の生存に必須であること、軸索伸長や神経細胞移動など脳発生を制御することを示してきた。一方で *in vitro* の実験系において、身体機能や活動の周期を制御する概日リズムの実体である分子時計の周期制御に MKK7 が関与することを明らかにしてきた。また近年になって他のグループから統合失調症の候補遺伝子の一つとして *mkk7* が報告されたことから、MKK7 が成体の脳機能においても重要な役割を担っている可能性が示されるようになった。そこで我々は、成体脳における MKK7 の機能を検討することを目的とし、*Synapsin-Cre* によって神経成熟後、神経細胞特異的に *mkk7* を欠損するマウス (*Mkk7^{flox/flox} Syn-Cre* マウス) を作出した。その結果、赤外線エリアセンサーによるマウスの自発活動の計測によって、自発活動の周期が伸長すること、周期性が減弱すること、給餌性リズム形成が増強されること、自発活動量が著しく減少することが明らかとなった。さらに、うつの程度を評価す

る強制水泳試験において無動時間が延長しうつ様行動が増強すること、統合失調症の判断に用いられるプレパルス抑制試験においてプレパルスによる驚愕反応の抑制が低下することが示された。これらの結果から、MKK7 が個体レベルにおいても概日リズム制御に関与することが示され、さらに *mkk7* が統合失調症の候補遺伝子の一つであるという過去の報告が支持された。現在は精神疾患様の症状発症に至る分子メカニズムについて、*Mkk7^{flox/flox} Syn-Cre* マウスを用いて解析を進めている。

申請者はこれまで、カドミウムや水銀など環境中の毒性金属が、標的臓器の細胞において、ストレス応答性シグナル経路を異常活性化し、下流の転写因子を発現・修飾することで、標的遺伝子の発現を調節し、細胞死を誘導することを明らかにしてきた。そこで本研究では、上記のストレス応答性シグナルを組織特異的に欠損したノックアウトマウスを用いて実験を行う。

4. 研究成果

Mkk7^{flox/flox} Synapsin-Cre マウスを作出し、メチル水銀を曝露した。脳内の神経細胞の増殖と細胞死について Nissl 染色による神経細胞のカウント、BrdU による増殖アッセイを行い、細胞死について TUNEL 染色、活性化 Caspase3 の免疫染色によって観察を行っている。さらにノックアウトマウスの脳・脊髄を用いてマイクロアレイ解析を行い、その遺伝子変動をパスウェイ解析によって網羅的に解明している。

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)

〔雑誌論文〕（計0件）

〔学会発表〕（計1件）

1. 岩月麻美子他；神経組織特異的 Mkk7 欠損マウスの解析[第132回日本薬学会;2012年3月/札幌]

〔図書〕（計0件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

○取得状況（計0件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.tmd.ac.jp/mri/dbio/index.htm>

1

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岩月 麻美子 (Iwatsuki Mamiko)

東京医科歯科大学難治疾患研究所・特任助教

研究者番号：10609689