

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 17 日現在

機関番号：15501

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2012～2013

課題番号：24890144

研究課題名(和文) グリア細胞に発現する FABP 分子による神経可塑性調節機構の解析

研究課題名(英文) Role of fatty acid binding proteins for regulation of neural plasticity

研究代表者

山本 由似 (YAMAMOTO, YUI)

山口大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：80635087

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,300,000 円、(間接経費) 390,000 円

研究成果の概要(和文)：本申請では、FABP遺伝子ノックアウトマウス及び各種培養細胞への強制発現系を用いて、FABP分子群の細胞内シグナル伝達系の制御にかかわる分子メカニズムについて検証した。その結果、1. FABP5/7分子が、オリゴデンドロサイト系細胞の分化過程に関与していることが判明した(Sharifi et al., Cell and Tissue Res 2013)。2. FABP3遺伝子ノックアウトマウスでは、認知・情動行動の異常が観察された。FABP3分子が、中枢神経系においてGABA合成酵素のグルタミン酸脱炭酸酵素67(GAD67)発現調節を介して、GABAの放出を制御していることが判明した。

研究成果の概要(英文)：In this study, we examined the role of fatty acid binding proteins (FABPs) in the regulation of cellular signaling transduction, mainly by using FABP gene ablated mice. The following results have been so far obtained: 1. brain-type FABP (FABP7) and epidermal-type FABP (FABP5) are differentially expressed in oligodendrocyte lineage cells and regulate their proliferation and/or differentiation(Sharifi et al., Cell and Tissue Res 2013). 2. heart-type FABP (FABP3) gene ablation in mice resulted in altered cognitive and emotional behaviors with the decrease of PUFA uptake into the brain. Basal GABA release was significantly increased in the context of FABP3 gene ablated mice, while glutamate release was significantly decreased compared with wild-type mice.

研究分野：神経科学

科研費の分科・細目：解剖学一般(含組織学・発生学)

キーワード：FABP 多価不飽和脂肪酸 高次脳機能

1. 研究開始当初の背景

脂肪酸は生体に必要不可欠な栄養素で、あらゆる生命現象に関与する。不飽和結合を2つ以上有する多価不飽和脂肪酸(PUFA)の多くは、食餌からの摂取に依存する必須脂肪酸として知られている。生体膜リン脂質を構成している脂肪酸のPUFA含有率が高いほど流動性が増し、神経細胞においては情報伝達効率が高まる。PUFA摂取不足は様々な全身症状を引き起こす。疫学調査から、統合失調症、双極性障害やうつ病など精神疾患において、脳内PUFAが低下していることが明らかになった。しかし、以上の疫学データと精神疾患の関連を結ぶ分子や制御機構は不明である。

我々は、PUFAの認知機能を含めた高次脳機能に及ぼす影響と、その制御機構を解明する鍵として、脂肪酸結合蛋白質(FABP)を見出した。FABPは、水に不溶性脂肪酸や脂肪酸代謝物の細胞内取り込み・輸送・代謝の調節を介して、様々な細胞機能に関わっていると考えられている。すなわち外来(食餌・循環血液)あるいは細胞自身に由来する脂肪酸が機能を発揮するための制御分子である。これまでに、12種類に及びFABP分子群が生体組織・細胞に広く分布していることが明らかになっている。また、FABP分子の発現解析から、n-6系脂肪酸に親和性が高いFABP3は、生体内の神経細胞特異的に、n-3系脂肪酸に親和性が高いFABP5及びFABP7は、グリア細胞特異的に発現することが分かっている。異なる細胞に発現するFABPが機能を発現する機構に差異があるのかについても、未だ不明な点が多い。

2. 研究の目的

本研究では、脳内発現の多様性を示すFABP分子に着目し、以下の件についてシグナル分子の発現及び活性の観点から検証した。神経細胞及びグリア細胞内のFABP分子が担うシグナルに対する制御機構を各々明確に区別するとともに、標的細胞に対する調節機構を解明することを目的とした。

- (1) グリア前駆細胞において、FABP分子は分化誘導に関与するのか否か
- (2) 神経細胞において、FABP分子が神経伝達物質放出をいかに制御しているのか

3. 研究の方法

各種FABPノックアウト(KO)マウス及び各種培養細胞株への強制発現系を用いた検討を加えた。

(1) オリゴデンドロサイトの分化段階におけるFABP5及びFABP7分子の影響を検討するため、FABP5及びFABP7KOマウスの大脳皮質と脳梁において、オリゴデンドロサイトの各分化マーカー(olig2、PDGFR、CC1)の陽性細胞数を、共焦点レーザー顕微鏡によって示した。生後2-4日齢の野生型、FABP5及びFABP7KOマウス大脳皮質からオリゴデンドロサイト前駆細胞(OPC)を単離・採取し、OPC

がオリゴデンドロサイトへと分化・成熟する過程でFABP分子がいかに関与するのか検討した。

(2) 神経細胞におけるFABP3分子の局在を検討するため、各種神経マーカーとFABP3抗体で多重染色し、共焦点レーザー顕微鏡で観察した。野生型及びFABP3KO成体マウスの帯状皮質をパンチアウトし、各種抗体にてウェスタンブロット法を行った。帯状皮質における神経伝達物質の放出を生理条件下で観察するため、興奮性アミノ酸であるグルタミン酸遊離量をin vivoマイクロダイアリシス法により解析した。帯状皮質にマイクロダイアリシス用透析プローブを設置し、リングル液を灌流することで、無麻酔・無拘束条件下で局所のグルタミン酸を回収し、高速液体クロマトグラフィー/電気化学検出器システムにて測定した。抑制性アミノ酸であるGABAの測定には、ELISA法を用いた。

4. 研究成果

(1) オリゴデンドロサイトはグリア細胞の一つで、神経軸索を包むミエリン(髄鞘)を形成することにより、神経伝達効率を高める。またオリゴデンドロサイトの異常は、神経変性疾患や精神疾患の病態に深く関与している。本研究の結果、FABP5とFABP7が、オリゴデンドロサイト系細胞の分化過程で、時間的多様性をもって発現し、その分裂・成熟過程に深く関与することを示した。具体的には、未分化なオリゴデンドロサイト前駆細胞にはFABP7が強く発現し、FABP5は成熟したオリゴデンドロサイトに強く発現していた。オリゴデンドロサイト系細胞における脂質代謝機構の分子メカニズムを解明することにより、神経変性疾患や精神疾患の病態理解が、さらに進むことが期待される。

(2) FABP3は外界からの情報統合を司る帯状皮質に高発現することはすでに分かっていたが、本研究の結果以下の点を明らかにすることができた。帯状皮質のバルブアルブミン(GABA作動性抑制性神経のマーカー)陽性細胞の約80%は、FABP3を発現していた。FABP3KOマウスの帯状皮質では、GABA合成酵素のグルタミン酸脱炭酸酵素67(GAD67)のタンパク質及びmRNAが、野生型マウスと比べて有意に増加していた。GAD67の上昇と一致して、GABAの量も増加していた。一方、興奮性神経の神経活動を主に反映する、カルシウム/カルモジュリン依存性プロテインキナーゼIIの活性は低下していた。グルタミン酸の放出量が低下していることが、マイクロダイアリシス法を用いた解析から明らかになった。帯状皮質は大脳辺縁系の各部位を結び付け、感情形成・処理、記憶学習に密接な関わりを持つ部位である。FABP3KOマウスでは認知・情動行動異常が起こることから、以上の結果は、FABP3KOマウスの帯状皮質の神経細胞の興奮と抑制機構のバランスが破たんし、その結果として、帯状皮質が重要な

役割を果たす認知・情動行動に異常を来す可能性を示唆するものである。

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6件)

Yamamoto Y. and Fukunaga K. (2013): Donepezil rescues the medial septum cholinergic neurons via nicotinic ACh receptor stimulation in olfactory bulbectomized mice. *Advances in Alzheimer's Disease*. 2,161-170. 査読有

Sharifi, K., Ebrahimi, M., Kagawa, Y., Islam, A., Tuerxun, T., Yasumoto, Y., Hara, T., Yamamoto Y., Miyazaki, H., Tokuda, N., Yoshikawa, T. and Owada, Y. (2013): Differential expression and regulatory roles of FABP5 and FABP7 in oligodendrocyte lineage cells. *Cell and Tissue Res*. 354,683-695. 査読有

Yabuki Y, Shioda N, Yamamoto Y, Shigano M, Kumagai K, Morita M, Fukunaga K. (2013): Oral L-citrulline administration improves memory deficits following transient brain ischemia through cerebrovascular protection. *Brain Res*. 1520,157-167. 査読有

Moriguchi S, Shinoda Y, Yamamoto Y, Sasaki Y, Miyajima K, Tagashira H, Fukunaga K. (2013): Stimulation of the sigma-1 receptor by DHEA enhances synaptic efficacy and neurogenesis in the hippocampal dentate gyrus of olfactory bulbectomized mice. *PLoS One*. 8,e60863. 査読有

Yamamoto Y, Shioda N, Han F, Moriguchi S, Fukunaga K. (2013): Novel cognitive enhancer ST101 enhances acetylcholine release in mouse dorsal hippocampus through T-type voltage-gated calcium channel stimulation. *J Pharmacol Sci*. 12,212-226. 査読有

Moriguchi S, Shioda N, Yamamoto Y, Tagashira H, Fukunaga K. (2012): The T-type voltage-gated calcium channel as a molecular target of the novel cognitive enhancer ST101: enhancement of long-term potentiation and CaMKII autophosphorylation in rat cortical slices. *J Neurochem*. 121,44-53. 査読有

[学会発表](計18件)

山本由似、徳田信子、澤田知夫、福永浩司、大和田祐二、帯状皮質の脂肪酸結合

蛋白質は GABA 作動性ニューロン調節を介して神経可塑性に關与する、第 119 回日本解剖学会総会・全国学術集会、2014.3.28(自治医科大学、栃木)

Islam, A., Sharifi, K., Ebrahimi, M., Kagawa, Y., Sawada, T., Yamamoto Y., Yasumoto, Y., Miyazaki, H., Suzuki, R. and Owada, Y. FABP3 deficiency in mouse placenta impaired fatty acid transport from mother to fetus. 第 119 回日本解剖学会総会・全国学術集会、2014.3.28(自治医科大学、栃木)

山本由似、福永浩司、大和田祐二、FABP3 は介在神経の GAD67 発現を調節する、日本薬学会第 134 年会、2014.3.28(熊本大学、熊本)

山本由似、福永浩司、大和田祐二、FABP3 は帯状皮質神経細胞における GABA シグナルを調節する、第 87 回日本薬理学会年会、2014.3.19(東北大学、宮城)

Kagawa, Y., Yasumoto, Y., Sharifi, K., Ebrahimi, M., Islam, A., Miyazaki, H., Kawamura, S., Yamamoto Y., Yoshikawa, T., Kogo, H., Sato, S., Sugino, N., Fujimoto, T., Owada, Y. FABP7 is involved in epigenetic modification in astrocytes. 第 36 回日本分子生物学会、2013.12.4(神戸ポートピアホテル、神戸)

山本由似、脂肪酸結合タンパク質研究から見えてくる神経精神疾患、第 18 回 ERATO タンパク質関連情報交換会、2013.11.22(大阪大学、大阪)

Yamamoto Y., Sharifi, K., Islam, A., Ebrahimi, M., Kagawa, Y., Yasumoto, Y., Miyazaki, H., Kawamura, S., Sawada, T., Tokuda, N., Fukunaga, K., Owada, Y. Fatty acid binding protein 3 (FABP3) regulates cognitive function and anxiety behaviors. *Neuroscience* 2013. 2013.11.14 (San Diego, USA)

Ebrahimi, M., Sharifi, K., Kagawa, Y., Islam, A., Yasumoto, Y., Miyazaki, H., Kawamura, S., Yamamoto Y., Sawada, T., Yoshikawa, T., Owada, Y. FABP7 is expressed in astrocytes and regulates the excitatory synapse formation in mouse cerebral cortex. *Neuroscience* 2013. 2013.11.14 (San Diego, USA)

Yasumoto, Y., Sadahiro, H., Sharifi, K., Kagawa, Y., Ebrahimi, M., Islam, A., Miyazaki, H., Kawamura, S., Yamamoto Y., Sawada, T., Suzuki, M., Owada, Y. *Neuroscience* 2013. 2013.11.14 (San Diego, USA)

山本由似、徳田信子、澤田知夫、福永浩司、大和田祐二、脂肪酸結合蛋白質 FABP3 による情動・認知行動調節メカニズム、日本解剖学会第 68 回中国・四国支部学術集会、2013.10.20(鳥取大学、鳥取)

Kagawa, Y., Ebrahimi, M., Sharifi, K., Islam, A., Yasumoto, Y., Miyazaki, H., Kawamura, S., Yamamoto Y., Sawada, T., Tokuda, T., Kogo, H., Fujimoto, T., Yoshikawa, T., Owada, Y. Fatty acid-binding protein 7 (FABP7) regulates lipid raft formation in astrocytes. 第86回日本生化学会大会、2013.9.13(パシフィコ横浜、横浜)
香川慶輝、Ebrahimi Majid、Sharifi Kazem、安本有希、宮崎啓史、Islam Ariful、山本由似、河村沙樹、原伯徳、澤田知夫、大和田祐二、脳型脂肪酸結合蛋白質(FABP7)は脂質ラフト形成を制御する、第119回山口大学医学会学術講演会2013.9.7(山口大学、宇部)
Yamamoto Y., Owada, Y., Fukunaga, K. Fatty acid binding protein 3 (FABP3)-knock-out induced cognitive dysfunction and anxiety phenotype. 第11回世界生物学的精神医学会国際会議、2013.6.24(国立京都国際会館、京都)
山本由似、福永浩司、大和田祐二、脂肪酸結合タンパク質FABP3欠損マウスにおける認知機能及び情動行動異常の神経機序、第36回日本神経科学大会、2013.6.22(国立京都国際会館、京都)
山本由似、徳田信子、澤田知夫、福永浩司、大和田祐二、脂肪酸結合蛋白質FABP3欠損マウスにおける情動行動とシグナル伝達異常、第118回日本解剖学会総会・全国学術総会、2013.3.30(サンポートホール高松・かがわ国際会議場、高松)
山本由似、大和田祐二、福永浩司、シグナル伝達と情動行動への脂肪酸結合蛋白質 FABP3 の関与、第86回日本薬理学会年会、2013.3.21(福岡国際会議場、福岡)
山本由似、大和田祐二、脂肪酸結合タンパク質 FABP の精神疾患への関与、山口大学研究推進体「ストレス」成果報告シンポジウム、2013.2.8(山口大学、宇部)
山本由似、塩田倫史、大和田祐二、福永浩司、脂肪酸結合蛋白質 FABP3 欠損マウスにおける情動行動とCaM キナーゼ活性の異常、第34回日本生物学的精神医学会、2012.9.30(神戸コンベンションセンター、神戸)

〔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://ds.cc.yamaguchi-u.ac.jp/~org-ana/t/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

山本 由似(YAMAMOTO, YUI)
山口大学・大学院医学系研究科・助教
研究者番号：80635087

(2)研究協力者

大和田 祐二(OWADA, YUJI)
山口大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号：20292211