

平成 28 年 12 月 5 日現在

機関番号：33916

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26780421

研究課題名(和文) 海馬歯状回の成熟度変化による行動変化機構の解明

研究課題名(英文) Exploring the relationship between altered neuronal maturation state in the hippocampal dentate gyrus and behavior

研究代表者

昌子 浩孝 (SHOJI, Hirotaka)

藤田保健衛生大学・総合医科学研究所・研究員

研究者番号：00466278

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000 円

研究成果の概要(和文)：海馬歯状回の神経細胞を光遺伝学的手法により刺激するため、複数の遺伝子改変マウスを手し交配を進めた。また、海馬歯状回の神経細胞の成熟状態は光刺激やストレス負荷によって変化し得ることを見出した。さらに、遺伝子改変により歯状回神経細胞の成熟状態が変化しているマウスや成熟状態に変化を生じさせる操作を加えたマウスの行動解析を行い、歯状回神経細胞の成熟状態と行動との関連について示した。

研究成果の概要(英文)：Neuronal maturation state of the hippocampal dentate gyrus can be affected by genetic and environmental factors. In this study, transgenic mice for optogenetic stimulation of neurons in the dentate gyrus were generated, and the dentate gyrus neurons in the transgenic mice were optogenetically stimulated. Additionally, normal mice were repeatedly exposed to stress. These manipulations induced alteration in maturation makers of dentate gyrus neurons. Behavioral analysis was performed in several strains of genetically engineered mice, which previously had been shown to have altered neuronal maturation state in the dentate gyrus compared to wild-type mice, in addition to chronically stressed mice. The results suggest that alterations in maturation state of the dentate gyrus neurons is associated with some behavioral phenotypes.

研究分野：行動神経科学

キーワード：歯状回 神経細胞 成熟 脳機能行動解析 マウス

1. 研究開始当初の背景

研究代表者の所属研究室では、これまでに、遺伝子と脳と行動の関係を明らかにすることを目的として、様々な遺伝子改変マウスや薬物を投与したマウスを対象に「網羅的行動テストバッテリー」と呼んでいる一連のテストにかけることによって行動を網羅的に解析してきた。その結果、活動量の亢進や社会的行動の異常、「気分の波」を反映するかのような周期的な行動変化、作業記憶の障害など様々な行動異常を示す遺伝子改変マウス系統を複数見出し、精神・神経疾患モデルマウスとして確立するに至っている。その中でもとりわけ顕著な精神疾患様の行動異常を示す CaMKII ヘテロノックアウトマウスの脳を調べてみたところ、海馬歯状回では、成体の脳であるにもかかわらず、ほぼ全ての神経細胞が未成熟な状態(「未成熟歯状回」)にあることを遺伝子発現解析・タンパク発現解析・電気生理学的解析等によって明らかにしてきた(Yamasaki et al., 2008)。その後、この現象は、同様に顕著な行動異常を示す他の複数系統の遺伝子改変マウスでも見出された(Takao et al., 2013; Ohira et al., 2013)。また、正常なマウスに抗うつ薬として広く使用されている選択的セロトニン再取り込み阻害薬を慢性的に投与すると、一旦は成熟した海馬歯状回の神経細胞が擬似的に未成熟な状態に戻る(「脱成熟」)も分かっていた(Kobayashi et al., 2010)。このような海馬での神経細胞の成熟状態の変化は、ヒトの統合失調症患者や双極性障害患者の死後脳でも確認されており、精神疾患の中間表現型であると考えられている。これらの知見は、海馬歯状回の神経細胞の成熟状態が遺伝的要因や環境的要因により変化すること、そしてその変化が脳の各種機能の調節に関与していることを示唆している。しかしながら、歯状回神経細胞の成熟状態の変化がどのような機能的役割を担っているのかについては依然として不明な点が多い。

2. 研究の目的

海馬歯状回の神経細胞の成熟状態は様々な遺伝的要因や環境的要因により変化し得ることがこれまでの研究から分かっていたが、歯状回の神経細胞の成熟状態を選択的に操作する方法はまだ確立されておらず、歯状回の神経細胞の成熟状態と脳機能との直接的な関係を解明するまでには至っていない。興味深いことに、けいれん発作を誘発する薬物の投与によっても海馬歯状回の神経細胞が脱成熟するという報告がある(Shin et al., 2013)。この知見は、神経細胞の脱成熟が持続的な神経細胞の過剰興奮によって引き起こされる可能性があることを示している。そこで、本研究では、マウスを対象に、光遺伝学的手法等を用いて歯状回の神経細胞を刺激することによって、歯状回特異的に神経細胞の成熟状態を操作する方法を確立するこ

とを目的とした。また、実験操作により成熟状態が変化したマウスの行動を解析することによって、歯状回神経細胞の成熟状態と脳機能との関係を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 遺伝子改変マウスの入手と交配

海馬歯状回の神経細胞を光遺伝学的手法により選択的に刺激することが可能なマウスを作製するため、海馬歯状回の神経細胞で Cre recombinase を発現するマウス(Pomc-Cre マウス)と、光感受性タンパク質チャネルロドプシンを発現するマウス(floxed ChR2 マウス)を入手・交配し、海馬歯状回の神経細胞特異的にチャネルロドプシンを発現する遺伝子改変マウスを作製する。

(2) 海馬歯状回の神経細胞を光遺伝学的手法により選択的に刺激することによって神経細胞の成熟状態を変化させることが可能か否かを検証する。そのため、海馬歯状回の神経細胞特異的にチャネルロドプシンを発現するマウスを繁殖し、このマウスの歯状回に光刺激を与え、神経細胞の成熟状態の変化の程度を遺伝子発現パターンや免疫組織学的特徴から評価する。

(3) 既に海馬歯状回神経細胞の成熟状態が変化していることが分かっている遺伝子改変マウス系統をはじめ、ストレス刺激を負荷したマウスの歯状回神経細胞の成熟状態を評価する。

(4) 海馬歯状回神経細胞の成熟状態に変化を起こすことが確認された各種実験操作を施したマウスの各種行動を網羅的行動テストバッテリーにより解析し、歯状回神経細胞の成熟状態と行動との関係を調べる。

4. 研究成果

海馬歯状回神経細胞特異的に ChR2 が発現するマウスを得るため、2 系統の遺伝子改変マウス(Pomc-Cre マウスと floxed ChR2 マウス)を入手し交配した。マウスの繁殖が当初の計画通り進まず、実験に必要な個体を十分に得ることができなかったが、一部のマウスについては歯状回に光刺激を与えた後、神経細胞の成熟状態について遺伝子マーカー発現パターン等を解析したところ、歯状回の神経細胞の成熟状態が変化している可能性があることを確認することができた。また、正常なマウスに反復してストレスを負荷すると、負荷期間の長さに応じて海馬歯状回の成熟状態が変化することを免疫組織学的解析から確認することができた。このストレス負荷マウスや既に歯状回神経細胞の成熟状態が変化していることが分かっている遺伝子改変マウス系統を対象に、各種行動解析を行ったところ、歯状回神経細胞の成熟状態の違いが

情動行動や記憶機能の違いと関連していることを示唆する結果が得られた。

<引用文献>

Yamasaki, N., Maekawa, M., Kobayashi, K., Kajii, Y., Maeda, J., Soma, M., Takao, K., Tanda, K., Ohira, K., Toyama, K., Kanzaki, K., Fukunaga, K., Sudo, Y., Ichinose, H., Ikeda, M., Iwata, N., Ozaki, N., Suzuki, H., Higuchi, M., Suhara, T., Yuasa, S., Miyakawa, T. (2008). Alpha-CaMKII deficiency causes immature dentate gyrus, a novel candidate endophenotype of psychiatric disorders. *Molecular Brain* 1: 6.

Takao, K., Kobayashi, K., Hagihara, H., Ohira, K., Shoji, H., Hattori, S., Koshimizu, H., Umemori, J., Toyama, K., Nakamura, H. K., Kuroiwa, M., Maeda, J., Atsuzawa, K., Esaki, K., Yamaguchi, S., Furuya, S., Takagi, T., Walton, N. M., Hayashi, N., Suzuki, H., Higuchi, M., Usuda, N., Suhara, T., Nishi, A., Matsumoto, M., Ishii, S., Miyakawa, T. (2013). Deficiency of schnurri-2, an MHC enhancer binding protein, induces mild chronic inflammation in the brain and confers molecular, neuronal, and behavioral phenotypes related to schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 38: 1409-1425.

Ohira, K., Kobayashi, K., Toyama, K., Nakamura, H. K., Shoji, H., Takao, K., Takeuchi, R., Yamaguchi, S., Kataoka, M., Otsuka, S., Takahashi, M., Miyakawa, T. (2013). Synaptosomal-associated protein 25 mutation induces immaturity of the dentate granule cells of adult mice. *Molecular Brain* 6: 12.

Kobayashi, K., Ikeda, Y., Sakai, A., Yamasaki, N., Haneda, E., Miyakawa, T., Suzuki, H. (2010). Reversal of hippocampal neuronal maturation by serotonergic antidepressants. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107: 8434-8439.

Shin, R., Kobayashi, K., Hagihara, H., Kogan, J. H., Miyake, S., Tajinda, K., Walton, N. M., Gross, A. K., Heusner, C. L., Chen, Q., Tamura, K., Miyakawa, T., Matsumoto, M. (2013). The immature dentate gyrus represents a shared phenotype of mouse models of epilepsy and psychiatric disease. *Bipolar Disorders* 15: 405-421.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計2件)

Hiroataka Shoji, Tsuyoshi Takagi, Shunsuke Ishii, Isabella A Graef, Gerald R Crabtree, Paul W Frankland, Tsuyoshi Miyakawa. Remote memory deficit in three strains of mutant mice with immature dentate gyrus phenotype. 第74回日本動物心理学会大会, 2014年7月, 犬山国際観光センター「フロイデ」(愛知県犬山市)。

Hiroataka Shoji, Tsuyoshi Takagi, Shunsuke Ishii, Isabella A Graef, Gerald R Crabtree, Paul W Frankland, Tsuyoshi Miyakawa. Remote memory deficit in three strains of mutant mice with immature dentate gyrus phenotype. 第37回日本神経科学大会, 2014年9月, パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)。

〔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:

6. 研究組織

(1)研究代表者

昌子 浩孝(SHOJI, Hiroataka)
藤田保健衛生大学・総合医科学研究所・研究員
研究者番号: 00466278

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし

(4)研究協力者

高雄 啓三 (TAKAO, Keizo)

自然科学研究機構生理学研究所・行動・代謝分子解析センター・特任准教授

研究者番号：8 0 4 2 0 3 9 7

萩原 英雄 (HAGIHARA, Hideo)

藤田保健衛生大学・総合医科学研究所・助教

研究者番号：8 0 5 1 4 5 0 4