

「脳の機能発達と学習メカニズムの解明」

平成 16 年度採択研究代表者

大隅 典子

(東北大学大学院医学系研究科 教授)

「ニューロン新生の分子基盤と精神機能への影響の解明」

1. 研究実施の概要

生後脳におけるニューロン新生の分子機構を解明するために、我々が転写因子 Pax6 によって発現が制御されていることを証明した脂肪酸結合タンパク質 FABP7 (Arai et al., 2005) の機能について、昨年度に引き続いて解析を進めた。免疫組織化学的データから、生後海馬歯状回において、Pax6 発現細胞と同様に、FABP7 発現細胞は神経幹細胞/前駆細胞様の性質を示すことが明らかになった。Fabp7 遺伝子の機能を欠失した Fabp7 ノックアウト (KO) マウスの海馬において神経幹細胞の増殖を調べると、野生型に比して約 30% の低下が認められた。これらの結果を考え合わせると、Pax6-FABP7 という遺伝子ネットワークは、生後ニューロン新生の制御に関わっている可能性が考えられた。また、吉川らにより、FABP7 遺伝子が統合失調症発症に関わる可能性が見いだされた (投稿中)。さらに、ephrinA5 の KO マウスを用いた研究を開始し、ニューロン新生と毛細血管径に相関性がある可能性を見いだしつつある。

2. 研究実施内容

脂肪酸結合タンパク質 (fatty acid binding protein: FABP) は、14-15 kDa の低分子タンパク質で、細胞質において脂肪酸の取り込みや輸送に関わることが知られている。FABP ファミリーの中では、特に FABP7 および FABP5 が胎生期から生後の脳に発現するが、脳における機能は未知であった。FABP7 は胎生期の神経幹細胞もしくは神経新生領域に発現することから、これまでに我々のグループでは胎生期終脳の神経上皮細胞で FABP7 の機能を阻害すると BrdU 標識細胞の数が減少することを見だし、FABP7 が神経幹細胞の増殖に必要であることを報告している (Arai et al., 2005)。

今年度は、生後海馬歯状回においても FABP7

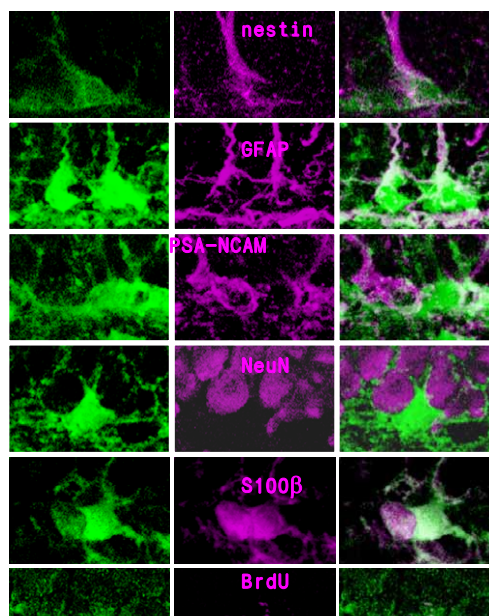


図 1 : FABP7 発現細胞の性質。FABP7 発現細胞は神経幹細胞/前駆細胞のマーカー (GFAP, nestin, PSA-NCAM) やアストロサイトのマーカー (GFAP, S100 β) を発現するが、ニューロンのマーカーである NeuN は発現しない。

および FABP5 が神経前駆細胞に発現して神経新生の制御に関わる可能性を考え、その機能を解析した。まず、野生型ラットの海馬において FABP7 および FABP5 の発現パターンを調べたところ、1) FABP7 および FABP5 発現細胞は神経前駆細胞のマーカーGFAP, PSA-NCAM を共発現するが、成熟ニューロンのマーカーNeuN は共発現しないこと、2) BrdU 標識 30 分後のサンプルでは BrdU 標識細胞の 88.8%が FABP7 を発現することを見いだした。さらに、FABP7 および FABP5 ノックアウトマウスの海馬では、野生型に比較して BrdU 投与 2 時間後の BrdU 標識細胞数がいずれも約 30%減少していた。これらの結果から、FABP7 および FABP5 は生後海馬の神経前駆細胞に発現し、海馬神経新生の制御に関わる可能性が考えられた。

吉川らは、統合失調症の原因遺伝子を解明する目的で、マウス・ラット等においてモデル化されるプレパルス抑制 (PPI) という指標をもとに、PPI の値に差のある 2 系統のマウスを用いて QTL 解析を行ったところ、責任遺伝子の候補として FABP7 が浮上した。大隅および井ノ口はすでに、*rSey²/+*ラットが PPI の低下を示すことを見いだしている (論文未発表) ことを合わせて考えると、*Pax6-FABP7* という遺伝子ネットワークの破綻が齧歯類において統合失調症様の行動異常につながる可能性は高いと考えられる (投稿中)。さらに、文献的には *Dvl1* や *NPAS3* ノックアウトマウスにおいて、ニューロン新生の低下と PPI の低下という現象が共通して見られることを合わせて考えると、ニューロン新生の低下が精神疾患様行動異常の発症を引き起こしやすい脆弱性になっている可能性が示唆される。実際、井ノ口らは生後の幼弱期ラットに X 線照射により一過性にニューロン新生を低下させ、さらに思春期にストレスを与えることにより、高頻度に PPI の低下を誘導しうる実験系を確立しつつある。したがって、ニューロン新生仮説については、来年度以降により確かなものとなる可能性が高いと考えられる。

3. 研究実施体制

(1) 「大隅」グループ

①研究者名

大隅 典子 (東北大学大学院医学系研究科 教授)
井ノ口 馨 (三菱化学生命科学研究所 主任研究員)
湯浅 茂樹 (国立精神・神経センター 部長)

②研究項目

・ 遺伝学的および分子生物学的アプローチによるニューロン新生の分子機構の解析

(2) 「吉川」グループ

①研究者名

吉川 武男 (独立行政法人理化学研究所脳科学総合研究センター分子精神科学研究チーム チームリーダー)

②研究項目

・ ニューロン新生因子と精神疾患の関連解析

(3) 「真鍋」グループ

①研究者名

真鍋 俊也 (東京大学 医科学研究所神経ネットワーク分野 教授)

②研究項目

・ニューロン新生と神経機能の関わりについての解析

4. 研究成果の発表等

(1) 論文発表(原著論文)

大隅 典子

- Shimizu, H., Iwayama, Y., Yamada, K., Toyota, T., Minabe, Y., Nakamura, K., Nakajima, M., Hattori, E., Mori, N., Osumi, N., Yoshikawa, T. Genetic and expression analyses of the STOP (MAP6) gene in schizophrenia. *Schizophr Res.* **84**, 244-252, 2006
- Nakatani, N., Hattori, E., Ohnishi, T., Dean, B., Iwayama, Y., Matsumoto, I., Kato, T., Osumi, N., Higuchi, T., Niwa, S., Yoshikawa, T. Genome-wide expression analysis detects eight genes with robust alterations specific to bipolar I disorder: relevance to neuronal network perturbation. Genome-wide expression analysis detects eight genes with robust alterations specific to bipolar I disorder: relevance to neuronal network perturbation. *Hum Mol Genet.* 15(12), 1949-1962, 2006
- Kanakubo, S., Nomura, T., Yamamura, K., Miyazaki, J., Tamai, M., Osumi, N. Abnormal migration and distribution of neural crest cells in Pax6 heterozygous mutant eye, a model for human eye diseases. *Genes Cells.* **11(8)** 919-933, 2006
- De Pietri Tonelli D, Calegari F, Fei JF, Nomura T, Osumi N, Heisenberg CP, Huttner WB. Single-cell detection of microRNAs in developing vertebrate embryos after acute administration of a dual-fluorescence reporter/sensor plasmid.. *Biotechniques* **41(6)**, 727-732, 2006
- Sugiyama D, Ogawa M, Nakao K, Osumi N, Nishikawa S, Nishikawa S, Arai K, Nakahata T, Tsuji K. B cell potential can be obtained from pre-circulatory yolk sac, but with low frequency. *Dev Biol.* **301 (1)**, 53-61, 2007
- Ohnishi T, Yamada K, Ohba H, Iwayama Y, Toyota T, Hattori E, Inada T, Kunugi H, Tatsumi M, Ozaki N, Iwata N, Sakamoto K, Iijima Y, Iwata Y, Tsuchiya KJ, Sugihara G, Nanko S, Osumi N, Detera-Wadleigh SD, Kato T, Yoshikawa T. A Promoter Haplotype of the Inositol Monophosphatase 2 Gene (IMPA2) at 18p11.2 Confers a Possible Risk for Bipolar Disorder by Enhancing Transcription. 2007 Epub ahead of print

井ノ口 馨

- Tanaka, M., Duncan, R.S., McClung, N., Yannazzo, J.A., Hwang, S.Y., Marunouchi, T., Inokuchi, K., & Koulen, P. Homer proteins control neuronal differentiation through IP(3) receptor signaling. *FEBS Lett.*, **580**, 6145-6150, 2006.
- Stokely, M.E., Hwang, S.Y., Hwang, J.Y., Fan, B., King, M.A., Inokuchi, K., & Koulen, P. Polycystin-1 can interact with Homer 1/Vesl-1 in postnatal hippocampal neurons. *J. Neurosci. Res.*, **84**, 1727-1737, 2006.
- Kataoka, M., Kuwahara, R., Matsuo, R., Sekiguchi, M., Inokuchi, K. & Takahashi, M. Development- and activity-dependent regulation of SNAP-25 phosphorylation in rat brain. *Neurosci. Lett.*, **407**, 258-262, 2006.
- Kudo, T., Fujii, T., Ikegami, S., Inokuchi, K., Takayama, Y., Ikehara, Y., Nishihara, S., Togayachi, A., Takahashi, S., Tachibana, K., Yuasa, S. & Narimatsu, H. Mice lacking 1,3-fucosyltransferase IX demonstrate disappearance of Lewis x structure in brain and increased anxiety-like behaviors. *Glycobiology*, **17**, 1-9, 2007.
- Matsumoto, M., Setou, M. & Inokuchi, K. Transcriptome analysis reveals the population of dendritic RNAs and their redistribution by neural activity. *Neurosci. Res.*, **57**, 411-423, 2007.
- Niibori, Y., Hayashi, F., Hirai, K. and Inokuchi, K. Alternative poly(A) site selection regulates the production of alternatively spliced *vesl-1/homer-1* isoforms that encode postsynaptic scaffolding proteins. *Neurosci. Res.*, **57**, 399-410 2007.
- Ohkawa, N., Fujitani, K., Tokunaga, E., Furuya, S. & Inokuchi, K. Stathmin, a microtubule destabilizer, mediates the development of dendritic arbors in neuronal cells. *J. Cell Science*, **120**, 1447-1456, 2007.

吉川 武男

- Arai M, Yamada K, Toyota T, Obata N, Haga S, Yoshida Y, Nakamura K, Minabe Y, Ujike H, Sora I, Ikeda K, Mori N, Yoshikawa T, Itokawa M. Association between polymorphisms in the promoter region of the sialyltransferase 8B (SIAT8B) gene and schizophrenia. *Biol Psychiatry* **59** ,652-659, 2006.
- Iwayama Y, Hashimoto K, Nakajima M, Toyota T, Yamada K, Shimizu E, Itokawa M, Hoshika A, Iyo M, Yoshikawa T. Analysis of correlation between serum d-serine levels and functional promoter polymorphisms of GRIN2A and GRIN2B genes. *Neurosci Lett* **394** ,101-104, 2006.
- Nakamura K, Yamada K, Iwayama Y, Tomoko Toyota T, Furukawa A, Takimoto T, Terayama H, Iwahashi K, Takei N, Minabe Y, Sekine Y, Suzuki K, Iwata Y, Pillai A, Nakamoto Y, Ikeda K, Yoshii M, Fukunishi I, Yoshikawa T, Mori N. Evidence that variation in the peripheral benzodiazepine receptor (PBR) gene influences susceptibility to panic disorder. *Am J Med Genet* **141B**, 222-226, 2006.

- Yoshitsugu K, Yamada K, Toyota T, Aoki-Suzuki M, Minabe Y, Nakamura K, Sekine Y, Suzuki K, Takei N, Itokawa M, Mori M, Yoshikawa T. Novel scale including strabismus and 'cuspidal ear' for distinguishing schizophrenia patients from controls using minor physical anomalies. *Psychiatry Research* **145**, 249-258, 2006.
- Yamada K, Hattori E, Iwayama Y, Ohnishi T, Ohba H, Toyota T, Takao H, Minabe Y, Nakatani N, Higuchi T, Detera-Wadleigh SD, Yoshikawa T. Distinguishable haplotype blocks in the HTR3A and HTR3B region in the Japanese reveal evidence of association of HTR3B with female major depression. *Biol Psychiatry* **60**, 192-201, 2006.
- Hatada I, Fukasawa M, Kimura M, Morita S, Yamada K, Yoshikawa T, Yamanaka S, Endo C, Sakurada A, Sato M, Kondo T, Horii A, Ushijima T, Sasaki H. Genome-wide profiling of promoter methylation in humans. *Oncogene* **25**, 3059-3064, 2006.
- Iwamoto K, Bundo M, Yamada K, Takao H, Iwayama Y, Yoshikawa T, Kato T: A family-based and case-control association study of SOX10 in schizophrenia. *Am J Med Genet* **141B**, 477-481, 2006.
- Shimizu H, Iwayama Y, Yamada K, Toyota T, Minabe Y, Nakamura K, Nakajima M, Hattori E, Mori N, Osumi N, Yoshikawa T. Genetic and expression analyses of the STOP (MAP6) gene in schizophrenia. *Schizophrenia Research* **84**, 244-252, 2006.
- Doi N, Itokawa M, Hoshi Y, Arai M, Furukawa A, Ujike H, Sora I, Yoshikawa T. A resistance gene in disguise for schizophrenia? *Am J Med Genet Part B: advance of print on Oct.* **25**, 2006.
- Nakamura K, Chen C-K, Yoshimoto Sekine Y, Iwata Y, Pillai A, El-Wui Loh E-W, Takei N, Suzuki A, Kawai M, Takebayashi K, Suzuki K, Minabe Y, Tsuchiya K, Yamada K, Iyo M, Ozaki N, Toshiya Inada T, Iwata N, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sora I, Ujike H, David M Ball DM, Yoshikawa T, Lin S-K, Mori N. Association Analysis of SOD2 Variants with Methamphetamine Psychosis in Japanese and Taiwanese Populations. *Hum Genet* **120**, 243-252, 2006.
- Nakatani N, Hattori E, Ohnishi T, Dean B, Iwayama Y, Matsumoto I, Kato T, Osumi N, Higuchi T, Niwa S, Yoshikawa T: Genome-wide expression analysis detects eight genes with robust alterations specific to bipolar I disorder: relevance to neuronal network perturbation. *Hum Mol Genet* **15**, 1949-1962, 2006.
- Ide M, Ohnishi T, Murayama M, Matsumoto I, Yamada K, Iwayama Y, Dedova I, Toyota T, Asada T, Takashima A, Takeo Yoshikawa T: Failure to support a genetic contribution of AKT1 polymorphisms and altered AKT signaling in schizophrenia.

J Neurochemistry **99**, 277-287, 2006.

- Nakatani N, Ohnishi T, Iwamoto K, Watanabe A, Iwayama Y, Yamashita S, Ishitsuka Y, Moriyama K, Nakajima M, Tatebayashi Y, Akiyama H, Higuchi T, Kato T, Yoshikawa T: Expression analysis of actin-related genes as an underlying mechanism for mood disorders. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **352**, 780-786, 2007.
- Ohnishi T, Ohba H, Seo K-C, Im J, Sato Y, Iwayama Y, Furuichi T, Chung S-K, Yoshikawa T: Spatial expression patterns and biochemical properties distinguish a second myo-inositol monophosphatase, IMPA2 from IMPA1. *J Biol Chem* **282**, 637-646, 2007.
- Nakajima M, Hattori E, Yamada K, Iwayama Y, Toyota T, Iwata Y, Tsuchiya KJ, Sugihara G, Hashimoto K, Watanabe H, Iyo M, Hoshika A, Yoshikawa T: Association and synergistic interaction between promoter variants of the DRD4 gene in Japanese schizophrenics. *Journal of Human Genetics* **52**, 86-91, 2007.
- Yamada K, Gerber DJ, Iwayama Y, Ohnishi T, Ohba H, Toyota T, Aruga J, Minabe Y, Tonegawa S, Yoshikawa T: Genetic analysis of the calcineurin pathway identifies the EGR family and specifically EGR3, as potential candidates in schizophrenia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **104**, 2815-2820 2006

真鍋 俊也

- Honda T, Sakisaka T, Yamada T, Kumazawa, N, Hoshino T, Kajita M, Kayahara T, Ishizakim H, Tanaka-Okamoto M, Mizoguchi A, Manabe T, Miyoshi J, Takai Y. Involvement of nectins in the formation of puncta adherentia junctions and the mossy fiber trajectory in the mouse hippocampus. *Mol. Cell. Neurosci.*, **31**, 315-325, 2006.
- Nakazawa T, Komai S, Watabe AM, Kiyama Y, Fukaya M, Arima-Yoshida F, Horai R, Sudo K, Ebine K, Delawary M, Goto J, Umemori H, Tezuka T, Iwakura Y, Watanabe, M., Yamamoto, T., Manabe T. NR2B tyrosine phosphorylation modulates fear learning as well as amygdaloid synaptic plasticity *EMBO J.* **25**, 2867-2877, 2006.
- Narushima M, Uchigashima M, Fukaya M, Matsui M, Manabe T, Hashimoto K, Watanabe M, Kano M. Tonic enhancement of endocannabinoid-mediated retrograde suppression of inhibition by cholinergic interneuron activity in the striatum. *J. Neurosci.* **27**, 496-506, 2007.
- Nakamura M, Sekino Y, Manabe T. GABAergic interneurons facilitate mossy fiber excitability in the developing hippocampus *J. Neurosci.* **27**, 1365-1373, 2007.
- Suto F, Tsuboi M, Kamiya H, Mizuno H, Kiyama Y, Komai S, Shimizu M, Sanbo

M, Yagi T, Hiromi Y, Chédotal A, Mitchell KJ, Manabe T, Fujisawa H. Interactions between plexin-A2, plexin-A4 and semaphorin 6A control lamina-restricted projection of hippocampal mossy fibers. *Neuron* **53**, 535-547, 2007.

- Bongsebandhu-phubhakdi S, Manabe T. The neuropeptide nociceptin is a synaptically released endogenous inhibitor of hippocampal long-term potentiation. *J. Neurosci.* (in press).

(2) 特許出願

平成 18 年度特許出願：1 件（CREST 研究期間累積件数：1 件）