

戦略的創造研究推進事業 CREST
研究領域「脳の機能発達と学習メカニズムの解明」
研究課題「脳発達を支える母子間バイオ
コミュニケーション」

研究終了報告書

研究期間 平成17年10月～平成23年3月

研究代表者:和田 圭司
(独立行政法人国立精神・神経医療研究センター
神経研究所 部長)

§ 1 研究実施の概要

母体環境と子の脳機能発達の関連性について科学的検証を加える目的で研究を行った。特に、1) 母体由来生理活性物質が胎児期、乳児期の脳に作用し、生後の行動発達などに影響するという仮説を実証するため当該生理活性物質(母子伝達物質と仮称)を同定するとともに、2) 母体の生活習慣、特に食環境の影響について検証を加えた。

1) 母子伝達物質の同定: 計6種の母子伝達物質の同定に成功した。

<母体から胎児へ>

- ・ グレリン: 妊娠中ストレス環境下で飼育した母体胎仔の G 蛋白質共役型受容体遺伝子発現とその内在性リガンドの母体から胎仔への移行性を解析した結果、グレリンが我々が求める生理活性物質であることをマウスで見出した。妊娠時のグレリン連続投与実験から、グレリンは産仔の生後のストレス反応性に関与することが示された。
- ・ BDNF: BDNF 欠損ヘテロマウスの交配による胎仔の解析からホモ接合体胎仔においても BDNF が存在することが示され、母体側 BDNF が胎仔に移行することを見出した。

<母乳・牛乳から乳児へ>

- ・ β -ラクトテンシン: 牛乳消化産物 β -ラクトテンシンが学習促進作用、抗不安作用を示すこと、ニューロテンシン NT₂ 受容体のリガンドであることをマウスで発見した。経口投与でも有効であり、 β -ラクトテンシンを含有する機能性食品の開発に今後結びつける。
- ・ YVLSR: 牛乳由来の新規物質で、経口投与で抗不安作用を示すことを見いだした。中枢の δ オピオイド系を間接的に活性化する結果を得ており、本ペプチドにも学習促進作用が期待される。また最近、摂食調節作用に関わる作用も見いだされたので、本ペプチドの実用化に向け、JST の支援により既に国内特許出願を済ませ、さらに国際特許申請の手続きを進めている。
- ・ ラクトメジン1: ヒト母乳の主要タンパク質ラクトフェリンに由来する低分子ペプチドで、経口投与により免疫促進作用と抗不安作用を示すことを新たに見出し、免疫系と神経系の新しいクロストークを明らかにした。ラクトメジン1はヒトラクトフェリンの一次構造中にのみ存在し、ウシ型ラクトフェリンには存在しない。現在、ウシ型ラクトフェリンが粉ミルク中に添加されているものもあるが、ウシラクトフェリンからは lactomedin1 に相当する補体 C5a 受容体アゴニストペプチドは派生しない。今後、本ペプチドが乳児の脳機能発達にどのように寄与しているか詳細な検討が重要である。
- ・ lactopril: すべての哺乳動物の乳タンパク質から派生する新規ペプチドであるが、今回、マウスに対する記憶増強作用を同定した。

2) 母体の生活習慣、特に食環境の影響: 子の脳機能発達に影響することを見いだした。

- ・ 高脂肪食飼育: 妊娠前から離乳まで高脂肪食で飼育した雌マウスの産仔は幼若期に海馬における過酸化脂質の蓄積、BDNF の発現低下、神経新生の低下を示すことを見出した。新生神経細胞の樹状突起の形状も変化しており、空間学習能も獲得過程に遅延を認めた。ただしこれらの変化は可逆性を有しており、産仔が通常食を取った場合は成体期には諸変化は消失した。
- ・ 食餌制限: 授乳中の雌マウスを70%の摂餌量制限で飼育した場合、産仔は幼若期から成体期にかけて不安様行動の増加を示すことを見出した。なお、この変化も可逆性で産仔が通常食を取った場合は成体期以後に不安様行動の変化は認めなかった。
- ・ Enriched 環境: 妊娠前から母体を enriched 環境下で飼育すると胎仔の海馬における神経新生が特に雌で影響を受けることを見いだした。行動についても不安様行動の亢進が特に雌で示唆された。この原因・機序は現時点ではまだ不明であるが、脳機能発達の sexual dimorphism を考える上で重要であると考えられる。

母体環境、母子生体内環境と子供の発達に関する研究は一部の疫学研究を除きまとまったデータというものが存在せず、またその作用機序に関しては毒性作用による病理学的解析が主体で

あった。脳機能発達にまで踏み込んだ研究は脳神経科学の分野においても希なものであり、本研究のめざした母子間バイオコミュニケーション研究は、その概念構築や母子伝達物質の同定という結果と合わせ、今回相当の成果を上げたと考える。脳と環境の研究についてはモデルも含めて意外にその解析手段が少ないことは注目に値する。すなわち、環境要因の変動を数値的に十分捉えられない場合が多いこと、環境因子が成体におけるどの分子にどのように作用するのかという機序が不明であることなどがその原因となっている。このような状況の中で、我々は母子関係が一つの理想的なモデルを形成すると考えた。胎児にとって母体は環境そのものであり、母体環境の変動は母体の生体内情報の変化であり、これは数値として表しやすい。したがって我々の母子のモデルは先行モデルとしての価値を確実に形成したと考える。胎教など俗説・風評の多かった分野に対して科学的メスが入り始めたという点で今後も評価されると考える。保健・医療の分野においても発達障害の防止を始め、脳と心の病気に関して環境因子を介入点にする新たな医学の構築につながっていくと期待される。

§ 2. 研究構想

(1) 当初の研究構想

神経研グループ、京大グループの2グループ構成とし、両者の当初計画として以下の4項目の実施を提案した。

1. 胎児・乳児脳の母子伝達受容機構解明
2. 母子伝達物質の同定と解析
3. ヒトでの実用化に向けた脳機能発達における母子伝達の機能解明
4. ヒトにおける母子伝達物質の応用（後期2年）

当初計画の概要は以下の通りである。

1. 胎児・乳児脳の母子伝達受容機構解明

- ・既にマウスにおいて選別した神経系前駆細胞に高発現する各 GPCR に対する抗体を作成し、新規の表面マーカーとして使用し、神経系前駆細胞の細分類を霊長類、齧歯類において行う。母体側因子の変動に伴って機能形態学的変化を遂げる胎児・乳児脳側の細胞を母子伝達受容細胞として同定する。また同様に、母体側因子の変動に伴って発現変化を示す受容体を母子伝達物質受容体として選別する。さらに、母子伝達物質受容体が介達するシグナル伝達機構を解明する。

2. 母子伝達物質の同定と解析

- ・母乳、牛乳、胎盤などに含まれる生理活性物質の抽出を行い、前項にある母子伝達物質受容細胞・同受容体に作用するものを選別し、さらに神経系前駆細胞の動態に影響を与えるものを特定することで母子伝達物質を同定する。
- ・血液、母乳などに含まれる母子伝達物質の定量法を開発する。

3. ヒトでの実用化に向けた脳機能発達における母子伝達の機能解明

- ・母子伝達候補物質の投与や母体側の栄養状態、心理的・身体的ストレスなどが脳発達ならびに生育後の社会性獲得など高次脳機能に与える影響を霊長類、齧歯類で機能形態学的に、行動科学的に、神経生理学的に、発生工学的に解析する。さらに、その影響の程度と母子伝達物質レベルとの相関性を明らかにする。

4. ヒトにおける母子伝達物質の応用（後期2年）

- ・倫理委員会の審議・承認を経て募集を行った健常（妊娠）成人の母乳、血液、尿中等に含まれる母子伝達物質を測定し、将来の疫学的調査に備えたデータを集積する。

- ・同定された健やかな脳機能発達を促す母子伝達物質候補につき、効果のあったものについては安全性などを検討し実用化を図る。また広く自然界に存在する動植物、微生物の中から同等な生理活性を持つ物質について検索を行う。

(2)新たに追加・修正など変更した研究構想

当初計画に対して研究遂行上、変更・修正の必要が生じたので以下のように対応した。

1. 胎児・乳児脳の母子伝達受容機構解明

母子伝達物質受容機構解明に関して、受容体同定とその一段階前の手順としての受容細胞の同定が必要と考えたが、議論の結果、網羅的遺伝子発現解析による母子伝達物質受容体の直接的同定の方が効果的・効率的という結論になった。そのため、免疫組織学的解析を取りやめ、マウスで母体側因子を変動させ、特異的に発現変動するGPCRの同定→脳における内在性リガンドの発現解析の手順でまず母子伝達物質を特定し、特定された母子伝達物質の作用機序を霊長類も含めて解析する、という手続きに変更した。

2. 母子伝達物質の同定と解析

本項の予測を超え、前段1の研究から直接的に母子伝達物質が同定された。さらに、ノックアウトマウスの活用からも母子伝達物質が同定されるなど、期待以上に成果があがった。また当初計画通り、前段の成果を活用したものでなく直接的手法であったが母乳、牛乳からも我々がめざす物質が同定された。胎盤の解析は開始したが、母子伝達物質の同定には到らず今後の課題として残った。なお、測定系についてはグレリン、BDNFは既に定量法が既存であり、 β -ラクトテンシンなど乳蛋白質派生成分は吉川・大日向グループが既にバイオアッセイによる測定系を開発しているの、開発・確立自体は大きな目標とはならなかった。

3. ヒトでの実用化に向けた脳機能発達における母子伝達の機能解明

母子伝達物質の投与や母体側の栄養状態、身体的ストレスと脳機能発達に関する研究は計画通りに進捗したが、心理的ストレス、霊長類での研究、発生工学的アプローチ、については着手したもののまとまった成果を上げるには到らなかった。

4. ヒトにおける母子伝達物質の応用（後期2年）

自然界に存在する母子伝達様作用物質については漢方薬の研究が進んでいるがまだまだまとまった成果を上げるには到っていない。実用化については乳蛋白質由来物質について取り組みが進捗している。臨床研究・疫学研究については体制を整えるには到らず今後の課題として残った。ただし、母乳成分中母子伝達物質に関する研究は計画以上の進展が認められた。

なお、§4での個々の結果報告については上記1から4を統合し、具体的成果について記載する形態を取った。

§3 研究実施体制

(1)「神経研究所」グループ

① 研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
和田 圭司	疾病研究第四部	部長	H17.10～H23.3
青木 俊介	同上	室長	H17.10～H20.3
関口 正幸	同上	室長	H17.10～H23.3
和田 恵津子	同上	CREST 研究員	H17.10～H23.3
中垣 慶子	同上	CREST 研究員	H21.4～H23.3
李 珩	同上	CREST 研究員	H21.7～H23.3
山本 和弘	同上	外来研究員	H18.10～H23.3
山内 玲奈	同上	外来研究員	H17.10～H19.3
小泊 郁子	同上	外来研究員	H17.10～H20.11
公文 麻美	同上	外来研究員	H18.10～H23.3
丸岡 貴司	同上	外来研究員	H18.10～H21.6
圖子 田康	同上	外来研究員	H18.10～H19.12
天野 大樹	同上	外来研究員	H18.10～H19.11
戸塚 祐介	同上	外来研究員	H19.4～H22.3
西本 美香	同上	D3	H19.4～H20.3
大澤 登	同上	D3	H19.4～H21.3
山田 大輔	同上	CREST 研究補助員	H17.10～H23.3
東 麻衣子	同上	外来研究補助員	H17.10～H22.3
紙永 涼子	同上	外来研究補助員	H22.4～H23.3
村上 美和子	同上	外来研究補助員	H22.4～H23.3

② 研究項目

胎児・乳児脳の母子伝達受容機構解明、母子伝達物質の同定と解析(ヒト母乳、大型動物乳腺分泌物の解析は除く)、ヒトでの実用化に向けた脳機能発達における母子伝達の機能解明

(2)「京都大学」グループ(研究機関別)

① 研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
吉川 正明	大阪大学	教授	H17.10～H23.3
大日向 耕作	京都大学	准教授	H17.10～H23.3
山田 優子	同上	助教	H20.4～H23.3
平田 創	同上	M2	H17.10～H19.3
井上 なつみ	同上	M2	H18.10～H20.3
岩崎 将志	同上	M2	H18.10～H20.3
趙 慧	同上	OD	H20.4～H21.3
吉田 真理子	同上	M2	H19.10～H21.3
鈴木 千尋	同上	M1	H20.10～H22.3
金川 典正	同上	B4	H20.10～H23.3
宮本 知京	同上	B4	H21.10～H23.3

② 研究項目

母子伝達物質の同定と解析(ヒト母乳、大型動物乳腺分泌物の解析)

§ 4 研究実施内容及び成果

各項目における動物を用いた研究は、国が定める法律・指針等を遵守し、国立精神・神経センター神経研究所小型実験動物倫理問題検討委員会、同霊長類倫理問題検討委員会で審議・承認された後に実施した。実際の動物の使用に当たっては 3R の原則に則り行った。

4. 1 母子伝達物質グレリンの同定(神経研究所グループ)

(1)研究実施内容及び成果

1)実施方法

母子伝達物質の実体としてまず蛋白質、ペプチドなど生理活性物質を想定した。研究手法的に数多くある生理活性物質の中から特定のものを直接探し出すのは至難であると判断したので、まず胎仔側にある受容体に着目することにした。その発想は母体側から母子伝達物質が移行すれば受け手である胎仔受容体は発現が変動するであろうというものであった。換言すれば、発現変動する受容体を特定すれば、母体側から移行する母子伝達物質が特定できるのではないかという仮定である。では、発現変動するという状況をどうやって作り出すかということであるが、妊娠中の母体を通常飼育でなく様々な環境下に置くことで、通常飼育の場合と特殊環境下においた場合の胎仔脳における受容体の発現変化を検討するという方法をとった。特殊環境としては、拘束ストレス、enriched environment, comfortable environment を準備した(詳細は後述)。受容体の発現解析をする手段であるが、二通りの方法を用いた。一つは、生理活性物質の受容体としてはゲノム的に G 蛋白質共役型受容体(GPCR)が最大のファミリーを形成するので、GPCRに着目し、その mRNA の発現を網羅的かつ定量的に PCR 法で解析した。遺伝子増幅に必要なプライマーは以前より作成・保持していた 284 種の GPCR に対するものを使用した。もう一つの方法は、DNA チップ技術を活用し、全ゲノムを網羅的に発現解析する方法である。後者のアプローチは母子伝達物質同定に到らなかったが、前者の方法からグレリン受容体が特定された。

同定された受容体から母子伝達物質を特定する工夫として、内在性リガンドが既知の受容体を選別し、ついで胎仔で内在性リガンドの発現が認められないものに着目することにした。その発想は、受容体の発現変化があるものの胎仔自らが内在性リガンドを作れないとすれば、そのリガンドは胎仔体外から由来するであろうというものである。このようにして内在性リガンドを特定したのち、同リガンドの母体投与時の胎仔脳内濃度測定などにより胎仔への移行性を確認するとともに、その作用解析を機能形態学的に行った。

2)実施内容

A) 母体環境の変動

C57BL/6J マウスを使用し下記のいずれかの環境変化を加えた。

拘束ストレス:市販器具を使用し、妊娠後半(E12.5～E16.5)に1日6時間(10～16時)、計5日間の負荷を加えた。胎仔はE18.5で採取した。

Enriched environment:既報に基づき胎仔をE18.5で採取するまでの5週間遊戯具がある大きなケージで飼育した。

Comfortable environment:通常飼育ケージであるが妊娠期間のみ厚めの床敷き、巣(潜り込める)がある低照明下で飼育し、胎仔をE18.5で採取した。

B) 受容体発現解析

雄胎仔マウス脳をE18.5で採取し、大脳皮質、海馬、扁桃体に分割しそれぞれの領域から mRNA を常法に従い調製し、SYBR Green を用いた定量的 PCR を実施した。GPCR 用のプライマーは公開されているマウスゲノム情報から嗅覚受容体に関わるものを除いた 284 種につき合成したものを使用した。

C) リガンド発現解析:

同定された GPCR のうち内在性リガンドが既知のものにつきインフォマティクスを利用し

脳内での発現を検討した。さらに、母子伝達物質の候補について脳内での発現を認めないことをそのゲノム情報に基づいて PCR 用プライマーを作成し、発現解析を行った。

D) 包括的遺伝子発現解析

Affymetrix 社の GeneChip を使用し、網羅的に mRNA の発現解析を行った。

E) グレリン濃度の測定、mRNA 発現の測定

グレリンについてはこれまでにアシル型グレリン(活性型)と非アシル型グレリン(非活性型)の存在が報告されているので、それぞれについて市販キットを用い ELISA 法で濃度測定を行った。グレリン mRNA 発現は SYBR Green を用いた定量的 PCR 法で測定した。

F) グレリン連続投与母体の産仔の解析

妊娠 12.5-18.5 までの間に 1 日 3 回のアシル型グレリン(0.3nmol, 3nmol)を皮下投与した母体マウスから出生した産仔(15-16 週齢)について以下の解析を行った。対照は生理食塩水投与母体マウスから出生した産仔を使用した。

行動解析:産仔に拘束負荷を 30 分間与え、拘束開放 10 分後の行動変化をオープンフィールド法で解析した。

血漿 CRH、グレリン濃度測定:市販 ELISA kit を用いて解析した。血漿 CRH は産仔に拘束負荷を 30 分間与えた場合の直前、直後、30 分後測定した。

視床下部 NPY 解析:mRNA は定量的 PCR 法で、また組織発現は免疫組織染色法で解析した。

視床下部グレリン受容体解析:定量的 PCR 法で mRNA を解析した。

3) 成果

A) グレリンの同定まで

a) 拘束ストレス負荷の場合(→グレリンを同定)

通常飼育下との比較で、拘束ストレスを負荷した雌マウス胎仔では予想外に多数の GPCR が各脳領域で発現変動することが見いだされた。一応のカットオフ値を4倍に設定した場合でも大脳皮質で28種、海馬で47種、扁桃体で27種のGPCRが発現変動した。多数発現変動した GPCR の中で内在性リガンドが既知のものについてゲノムインフォマティクス的に内在性リガンドの脳内発現を検討したところ、グレリン受容体のリガンドであるグレリンは脳での発現が報告されていないことを見いだされた。発現変動する受容体の中にはグレリン受容体も含まれていたので、上記 1) の実施方法に記述したように、グレリンを母子伝達物質の候補物質としてその後の解析を行うことにした。

b) enriched environment, comfortable environment の場合

同様な解析を enriched environment, comfortable environment についても実施したが脳内でその内在性リガンドの発現が報告されていないケースは見いだせなかった。

c) 包括的遺伝子発現解析

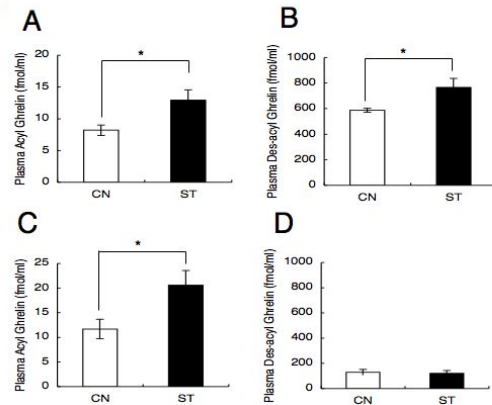
多数の遺伝子の発現変動を認めたが、グレリン受容体を除き、特定の受容体を同定するには到らなかった。

B) グレリン作用の詳細解析

a) 母体拘束ストレスによる血中グレリン値の変動(→胎仔でアシル型グレリン増加)

妊娠マウスに拘束ストレスを上記条件で負荷した場合、妊娠 16.5 日の母体の血中でアシル型グレリン、非アシル型グレリンを測定したところいずれも有意に上昇することを ELISA 法により確認した。これに対し当日の胎仔血中グレリン値はアシル型は有意に増加していたが、非アシル型は対照胎仔における値と有意差を認めなかった。

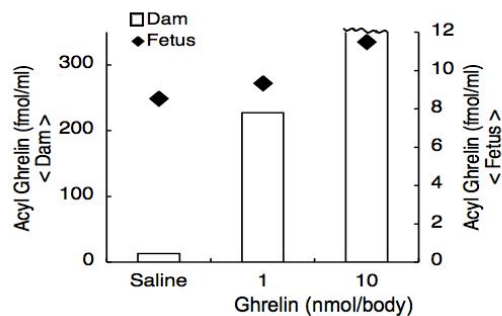
図 1



母体への反復拘束ストレス負荷の結果、母体でアシル型グレリン(A)、非アシル型グレリン(B)がともに上昇した。一方胎仔では、アシル型グレリン(C)のみが上昇し、非アシル型グレリン(D)に変化はなかった。

- b) 母体拘束ストレス時の胎仔グレリン mRNA 測定 (→胎仔でグレリン mRNA に変化はない)
 E16.5において胎仔脳、胎仔体(脳を除く)のグレリン mRNA を定量したが対照仔と比較して有意な変動は認めなかった。a), b)項の結果は、胎仔におけるグレリン増加は胎仔における内在性発現の増加でない可能性を示唆する。
- c) 母体グレリン投与時の胎仔血中グレリン値変化の解析 (→胎仔でもグレリン増加)
 妊娠 18.5 日にアシル型グレリンを 10 nmol 静脈投与すると基準値に比べ胎仔血中のアシル型グレリンが約 1.3 倍に、非アシル型グレリンが 2 倍に増加することが観察された。この結果は、間接的な機序は検討の余地があるものの、グレリンの胎盤を通じた胎仔への直接的な移行により胎仔グレリン値が増加した可能性を示唆する。

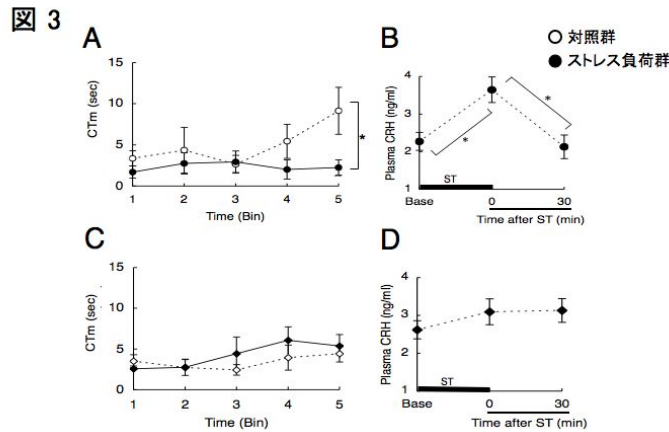
図 2



妊娠母体にアシル型グレリンを静脈投与すると母体のみならず胎仔においても血中アシル型グレリン値が増加した。

- d) 妊娠期のグレリン連続投与が産仔行動に与える影響の解析 (→産仔ではストレス反応性が変化)
 妊娠 12.5-18.5 までの間に 1 日 3 回のアシル型グレリン (0.3nmol, 3 nmol) を皮下投与した。その結果、母体では濃度依存的なアシル型グレリン、非アシル型グレリンの増加が認められた。しかし、この条件下では母体の体重、摂餌量に変化はなく、哺育や行動にも顕著な変化を認めなかった。他方、産仔 (15-16 週齢) の行動解析では、生理食塩水を投与された母体から出生した対照マウスの場合拘束ストレス無しの状態では観察時間の経過とともに中央滞在時間が増加するのに対し、グレリンを連続投与した母体から出生した仔マウスではいずれの濃度でもそのような増加を認めなかった。また仔マウスに拘束ス

ストレスを負荷した場合、対照マウスでは血中 CRH 値が拘束ストレス負荷とともに一過性に上昇するのに対し、グレリンを投与した母体から出生した仔マウスではいずれの濃度でもこのような CRH の上昇は認められなかった。これらの結果は、母体にグレリン投与した産仔マウスでは身体的ストレスに対する反応性が変化していることを示唆する。

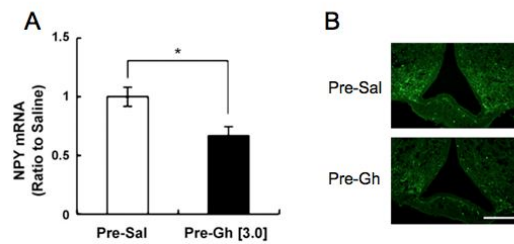


母体にグレリン投与した産仔マウスにおいてストレス反応性の変化(C) CRH 反応性の低下(D)を認めた。(A) (B)はそれぞれの対照群。

e) 妊娠期のグレリン連続投与が産仔脳機能形態に与える影響の解析(→産仔で継続的な変化が存在)

ストレス反応性は視床下部機能と密接に関連しているため、視床下部について検討を加えた。まず、CRH の制御因子として知られているニューロペプチド Y について解析したところ、mRNA 発現量が高濃度グレリン投与母体から出生した仔マウス(16 週齢)で減少していることが見いだされた。さらにニューロペプチド Y の主たる発現部位である弓状核を免疫組織学的に解析したところ、その発現ニューロンの数が低下していることが確認された。さらに、弓状核でのニューロペプチド Y 発現は同部位にあるグレリン受容体にグレリンが結合することで促進されることが報告されているので、同部位のグレリン受容体発現を解析したところグレリン投与母体から出生した仔マウス(16 週齢)でグレリン受容体 mRNA が減少していた。血漿中のグレリン値はグレリン投与母体から出生した仔マウスでは濃度依存的な増加を示すので、弓状核におけるグレリン受容体発現の低下は down-regulation のような機序で誘導されたものと推測される。以上の結果は前段で見られたストレス反応性の低下に出生後も持続的に継続する機序が関わっていることを示している。具体的には、血中グレリン値の高値に伴う視床下部弓状核でのグレリン受容体の down regulation、ニューロペプチド Y の反応性と発現の低下、CRH 反応性の低下、が想定される。

図 4



母体にグレリン投与した産仔マウスにおいて視床下部でニューロペプチドY mRNA発現低下(A)、視床下部弓状核でニューロペプチドY 免疫染色性の低下(B)を認めた。

4) 成果の位置づけと類似研究との比較

今回の結果は、母体からグレリンが胎仔に移行する可能性を示唆するとともに、母体におけるグレリン高値が出生後も長期にわたり産仔のストレス反応性に影響を及ぼす可能性を示唆する。グレリンの胎仔への移行については、別グループからもRI標識されたグレリンを用いた実験により示されているが、母子間バイオコミュニケーションの観点から産仔の行動と脳機能形態に及ぼす影響を捉えた研究はこれが初めてである。グレリンについてはその発見者である寒川らの研究を始め代謝内分泌を中心にこれまでに膨大な量の蓄積があるが、脳機能発達という点においては不思議なくらいに研究の乏しい現状がある。グレリンの臨床研究は盛んで、脳神経の分野においても神経性食思不振症における治療薬の可能性を求めて臨床治験が開始されている。今回の我々は、母体環境の変化が子の脳機能発達に及ぼす可能性をグレリンという物質を通して示したが、この我々の研究と他の先端的研究の融合により精神疾患領域における発症機序の理解と予防法の構築に向けた研究が一層進むと期待される。

母子伝達物質グレリンの同定に関しては、GPCRに着目した戦略が功を奏したと考えている。このような取り組みは世界的にも例がなく、母子伝達物質同定法の一つのスタンダードとして今後位置づけられていくであろうと期待している。なお、今回の網羅的解析においては、manpowerなどの点から変動を認めた全ての受容体に対してより詳細な解析を加えるには到らなかった。我々は、胎仔脳内で内在性リガンドが発現されている場合においても母体からリガンドが移行するケースは存在するであろうと予測している。今後の課題として引き続きグレリン以外の母子伝達物質を探索していく予定である。なお、胎仔脳内で内在性リガンドが発現している場合においても母子伝達物質を同定することに成功した事例については次段で報告する。

4.2 母子伝達物質 BDNF の同定(神経研究所グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

1) 実施方法

前段の GPCR 戦略は網羅的解析には適しているが、その戦術上胎仔脳内で内在性リガンドが発現するケースについては多くを期待できない。このようなケースにおいては個別に同定作業を進めることも必要となってくる。そこで我々は工夫を凝らし、これまでに内外において多数作製されている各種ノックアウトマウスに着目することにした。特に、ヘテロマウス同士の交配による出産直後もしくは暫くの経過後、ノックアウト個体のみが何らかの理由により死亡する例に着目した。つまり、ノックアウト産仔は死亡するがノックアウト胎仔は子宮

内で生存している事実に着目した。ノックアウト産仔が死亡するのはノックアウトされた遺伝子の機能が生存に必須であるからと考えられるが、体内においても胎仔がその遺伝子産物を生産できないのは同様である。しかしそれにもかかわらず体内で生存できるのは母体から胎仔ではノックアウトされたはずの遺伝子産物が輸送されてくるので生存できるのであろうと想定したのである。このような観点から文献などを参考に各種ノックアウトマウスを調査したところ、BDNF ノックアウトマウスが該当することを見いだした。BDNF はこれまでの多数の研究により脳機能にきわめて重要な役割を担うことが報告されている。研究の実施方法はきわめて単純で胎仔脳内の BDNF 値を ELISA 法により測定することによった。

2) 実施内容

A) ヘテロマウスの交配による胎仔の解析

既報の BDNF ノックアウトマウスのヘテロ接合体の雌雄を交配し、胎生 E13.5, 14.5, 17.5, 18.5 と出生時 P0 に胎仔脳を採取し、mRNA を調製後、定量的 PCR 法により BDNF mRNA を測定した。また、同時期の胎仔脳内の BDNF 蛋白質量を市販の ELISA キットを使用して測定した。各仔の遺伝子型の解析は PCR 法により行った。

B) 母体 BDNF 投与時の胎仔脳 BDNF 値の解析

野生型マウス妊娠 14.5 日に 0.1 および 1 マイクログラムの精製 BDNF を静脈注射し、10 分後に胎仔脳を採取し脳内 BDNF 値を ELISA 法で測定した。

3) 成果

A) 胎仔脳内の BDNF 蛋白の測定 (→ノックアウト胎仔脳にも BDNF が存在)

a) 仔の遺伝子型

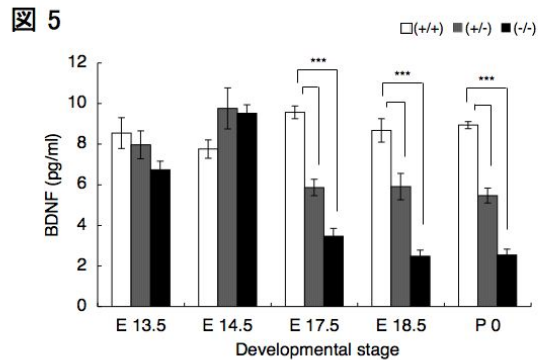
胎仔数は解析日時間において有意な差は見いだせなかったが、P0 では産仔の数が胎仔数に比べ減少した。胎仔の遺伝子型はメンデルの法則に則っていたが、出生仔ではノックアウトマウスの数が有意に減少していた。

b) 胎仔脳における BDNF mRNA 発現

定量的 PCR 法で測定したところ、野生型とヘテロ接合体では E13.5 での発現は認められたものの、E18.5 に比べ発現量は低値であった。ノックアウトされたホモ接合体では E13.5 においても E18.5 においても BDNF mRNA は検出限界以下であった。

c) 胎仔、産仔脳における BDNF 蛋白の発現

野生型、ヘテロ接合体、ホモ接合体いずれもどの妊娠期のステージを通しても BDNF が検出された。野生型ではその値は各ステージに大きな変動は示さなかったがヘテロ接合体においては野生型に比べ BDNF 蛋白量は E17.5 以降の妊娠後期で有意に減少した。さらに、ホモ接合体においては E17.5 以降の妊娠後期でヘテロ接合体と比較しても有意に減少した。



野生型、ヘテロ接合体、ホモ接合体いずれも測定したすべての妊娠期においてBDNFが検出された。

B) 母体 BDNF 投与時の胎仔脳 BDNF 値の解析

野生型マウス妊娠 14.5 日に 0.1 および 1 マイクログラムの精製 BDNF を静脈注射し、10 分後に胎仔脳を採取し脳内 BDNF 値を ELISA 法で測定したところ、1 マイクログラム投与群において胎仔脳内 BDNF 値の有意な増加が認められた。

4) 成果の位置づけと類似研究との比較

本来 BDNF を産生できる可能性がないノックアウト胎仔からも BDNF が検出されたことから、母体から BDNF が胎仔に移行する可能性が示唆された。母体への一過性の BDNF 投与が胎仔脳における BDNF 値の増加を引き起こした結果は、間接的な機序の検討の余地があるものの、BDNF の胎盤を通した胎仔への直接的な移行の可能性を支持するものを考えられる。BDNF はこれまでの様々な研究からニューロンの生存と機能発現に必須の分子であることが示されている。また、うつ病をはじめ精神・神経疾患の発症にも関わることが示唆されている。精神・神経疾患の近年における増加には遺伝要因だけでなく環境要因の関与が議論されているが、今回の結果は、精神・神経疾患の予防と克服において、母体環境への取り組みの重要性を示唆するものである。

母子伝達物質の同定に関しては、前段の GPCR 戦略に加えて、今回のノックアウトマウスを活用したアプローチもきわめて有効な手段であることが示された。特に胎仔脳に内在性に発現を認める物質の中から、ある特定の物質を母子伝達物質として特定するには本法が先の GPCR 戦略よりも有効であると考えられる。ノックアウトマウスを母子伝達物質の同定に活用した例は少なく、また候補物質として BDNF を世界に先駆けて見いだした意義は大きいと考える。

4. 3 母体食環境が子の脳機能発達に影響する機序の同定—高脂肪食負荷 (神経研究所グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

1) 実施方法

前段までの研究は母子伝達物質の同定を目的とするものであったがこの段以降では母体の食環境の変化が子の脳機能発達に及ぼす影響を解析することにした。我が国のみならず欧米では肥満の増加が顕著であり、生活習慣病を多くする要因ともなっている。第二次世界大戦後、我が国では生活習慣、特に食に関する大きな変容があり、なかでも一日あたりの脂肪の摂取量は昭和 21 年の一日 15 グラムに比較して現在では 60 グラムに迫るかという状況となっている。生活習慣の変容は精神・神経疾患の増加にもつながることが疫

学的に示唆されており、その予防や克服のために生活習慣がもたらす脳機能への影響に関する詳細な分子機序の解明が待たれている。今回我々は、子供の発達障害の克服も含めて、脳機能発達に及ぼす環境要因の同定に取り組むことにしたが、先に記述した食、特に脂肪摂取量に関するデータに着目することにした。母子間バイオコミュニケーションに関する観点から、母体に高脂肪食を与えた場合の子の脳機能発達についてマウスで研究することにした。

2) 実施内容

A) 雌マウスへの高脂肪食負荷

C57BL/6J マウスを使用し生後 5 週齢から二群に分け、一群にはそれまでの通常食を継続し他群には高脂肪食(日本クレア HFD-32)を負荷した。交配は生後 11 週に行い、離乳するまで高脂肪食を与えた。離乳後は通常食を投与した。高脂肪食の組成は表の通りである。

図 6 餌の組成

飼料100g当たりの含有量	通常食(CE-2)	高脂肪食(HFD 32)
水分	9.2 [%]	6.9 [%]
タンパク質	25.6 [%]	25.0 [%]
脂質	4.0 [%]	32.4 [%]
食物繊維	3.8 [%]	2.9 [%]
炭水化物	50.5 [%]	28.8 [%]
脂肪酸	3.8 [g]	31.9 [g]
飽和脂肪酸	0.7 [g]	7.1 [g]
不飽和一価脂肪酸	0.95 [g]	21.18 [g]
不飽和多価脂肪酸	2.0 [g]	3.3 [g]
コレステロール	-	12.9 [mg]
脂質カロリー	10.6 [%]	56.7 [%]
タンパク質カロリー	30.1 [%]	20.1 [%]
総カロリー数	340.4 [kcal]	507.6 [kcal]

B) 母体の解析

体重、摂餌量、血中コレステロール、遊離脂肪酸、トリグリセライド、血糖値などを経時的に測定した。また、脂肪組織について組織学的検討を加えた。

C) 産仔の解析

母体の解析項目について産仔でも生後 10, 21, 70 日に解析を加えた。さらに、幼若期、成体期に分け脳の機能形態学的解析として以下の項目を実施した。

生化学解析: 脳の各領域における酸化蛋白質の解析を western blot 法で、酸化脂質の解析を免疫組織科学的に実施した。

神経新生の解析: 神経系前駆細胞の増殖について BrdU を用いた組織学的解析を実施した。また、神経系前駆細胞の分化について calbindin 陽性率を指標にした組織学的評価を行うとともに、GFP 発現レトロウイルスベクターの脳定位的 injection を用いて新生ニューロンの樹状突起の形態を解析した。新生ニューロンは PSA-NCAM で標識した。さらに、酸化脂質の及ぼす影響について培養神経系前駆細胞を用いて BrdU 陽性細胞数で判定した。

海馬 BDNF 解析: ELISA により蛋白量を測定するとともに PCR で mRNA を定量した。
行動解析: 空間学習能につき Barnes 迷路学習装置で評価した。

3) 成果

A) 母体の解析

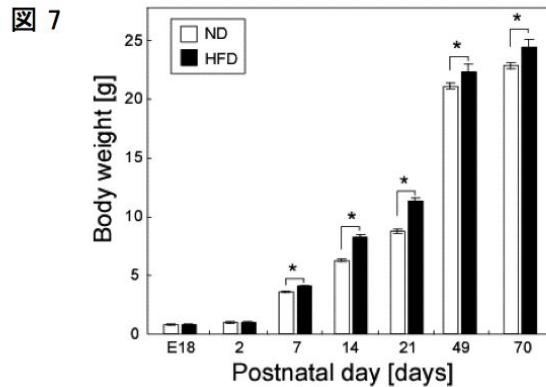
高脂肪食摂取の場合、母体の体重増加が摂取開始時期から認められた。血中のコレステロール値、遊離脂肪酸値はいずれも有意に高値で、耐糖能障害が存在した。しかし

摂餌量に差は対照母体との間には見いだせなかった。以上の結果は、高脂肪食負荷により母体の肥満と生活習慣病要素が誘導されたことを示す。実際、脂肪組織の染色から高脂肪食負荷の母体では脂肪の蓄積による脂肪細胞の肥満が確認された。

B) 産仔の解析

a) 体重(→体重増加は成体期まで持続)

高脂肪食摂取した母体の産仔は出生 7 日目から観察した生後 70 日まで軽度であるものの有意な体重増加が認められた。なお胎生期の体重に差はなく、また産仔数は対照群との間に有意な差は見いだせなかった。また摂餌量については差を見いださなかった。



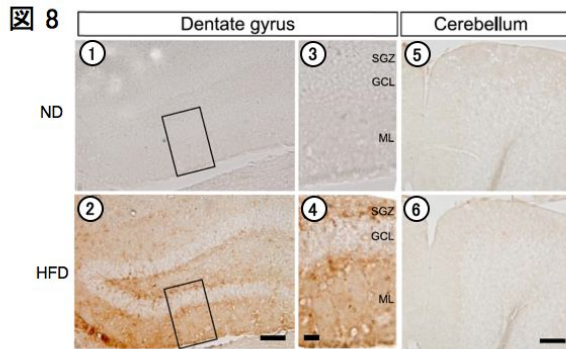
高脂肪食摂取した母体の産仔は生後有意な体重増加を認めた。

b) 血液化学等(→幼若期に脂質酸化が亢進)

高脂肪食摂取した母体の産仔は幼若期に当たる生後 10 日、21 日において血中のコレステロール値、遊離脂肪酸値、トリグリセライド値、血糖値はいずれも有意に高値で脂肪肝も見いだされた。さらに、血中脂質酸化、蛋白質酸化をそれぞれ TBARS (thiobarbituric acid reaction substances)、カルボニル化を指標に測定したところ、10、21 日齢で TBARS が高値であった。カルボニル化には変化は見いだせなかった。また、生後 70 日齢ではいずれの解析においても対照群との間に有意な変化は見いだせなかった。

c) 脳組織の生化学的解析(→幼若期海馬で脂質酸化が亢進)

脂質酸化の指標として MDA, 4-HHE を使用し、高脂肪食摂取した母体産仔が幼若期 (P21) の脳各領域について western blot 法で検討したところ、いずれの部位でも脂質酸化の増加を認めたものの特に海馬で脂質酸化の亢進が顕著であった。さらに免疫組織学的検討を行ったところ、海馬の中でも歯状回で脂質酸化が顕著であった。歯状回には神経系前駆細胞が存在するが同細胞においても酸化脂質の蓄積が認められた。このような変化は対照産仔では見いだせず、また高脂肪食摂取した母体産仔でも成体期 (P70) では亢進を認めなかった。

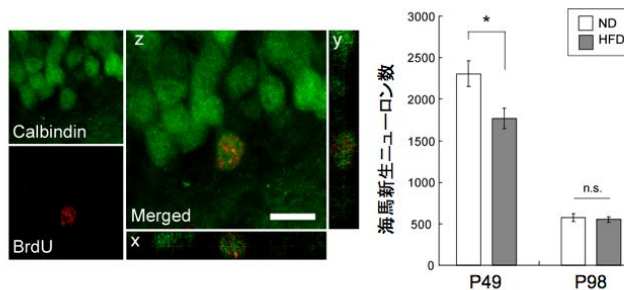


高脂肪食摂取した母体の産仔では酸化脂質の蓄積を海馬歯状回で認めた(②、④)。

d) 海馬神経新生の解析(→幼若期に増殖、神経新生低下)

BrdU 標識法で歯状回神経系前駆細胞の増殖を組織学的に検討したところ、高脂肪食摂取した母体産仔が幼若期(P21)の時には標識細胞数が対照産仔と比較して有意に減少することが見いだされた。さらに幼若期(P49)において calbindin 陽性率が有意に低下しており、神経新生が低下していることが示唆された。しかし、胎生 E18、あるいは 70 日齢では有意な差は検出できなかった。また培養細胞においても、MDA 処置が BrdU 陽性細胞の数や PCNA の発現を減少させることを P1 マウス海馬より neurosphere 法で調製した神経系前駆細胞で見いだした。

図 9

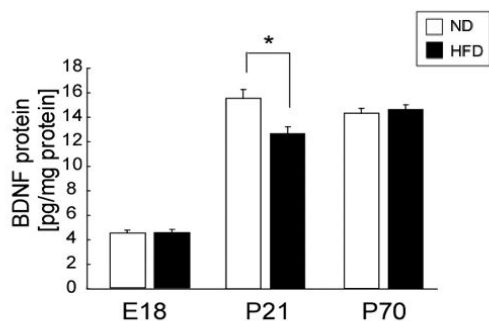


高脂肪食摂取した母体の産仔では幼若期の海馬で神経新生の低下を認めた。

e) 海馬 BDNF の発現解析(→幼若期に BDNF 低下)

ELISA 法で海馬における BDNF 発現量を測定したところ、高脂肪食摂取した母体産仔では P21 で有意にその値が低下していた。mRNA レベルにおいても低下が確認されたが、胎生 E18、あるいは 70 日齢では有意な差は検出できなかった。また、NT-3, NGF についても mRNA 発現量を測定したが、いずれの時期においても有意な差は見いだせなかった。また海馬初代培養細胞で、酸化ストレス処置が BDNF 発現量を低下させることを見いだした。

図 10

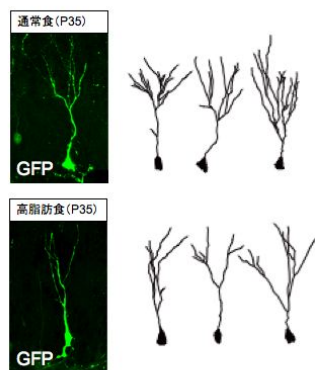


高脂肪食摂取した母体産仔の海馬では幼若期に BDNF 蛋白量低下を認めた。

f) 海馬新生神経細胞の形態解析 (→幼若期に樹状突起の分枝数低下)

脳定位的 injection 法で海馬神経系前駆細胞を GFP 標識し、その後新生された神経細胞の樹状突起を観察した。高脂肪食摂取した母体産仔では P21 での標識で樹状突起の分枝数と長さが有意に低下していた。しかし、70 日齢では有意な差は検出できなかった。

図 11

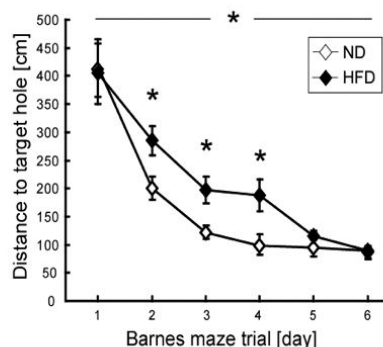


高脂肪食摂取した母体産仔の GFP 標識した海馬新生神経細胞とそのトレース。

g) 空間学習能の解析 (→幼若期で学習獲得過程が障害)

Barnes 迷路学習装置で空間学習能を評価したところ、高脂肪食摂取した母体産仔が幼若期 (28 日齢) の場合に、学習は成立するものの、学習獲得過程において目標物への到達時間と移動距離に遅延を認めた。成体期 (10 週齢) では有意な差は検出できなかった。またオープンフィールド法による行動観察を行ったところ、幼若期で、総移動量や中央滞在時間に差はないものの立ち上がり行動 (rearing) の低下を認めた。

図 12



高脂肪食摂取した母体の産仔では空間学習獲得過程に遅延を認めた。

4) 成果の位置づけと類似研究との比較

母体の食習慣が子の脳機能発達に及ぼす影響を分子レベルで解析した研究は世界的にも大変少ない。特に今回、食スタイルの欧米化に伴う脂肪摂取量の増加という社会的現象を反映した研究をマウスで実施したが、その結果、母体の高脂肪食摂取は仔の脳機能発達に変化を誘導するという事実を発見することとなった。具体的には、海馬などでの酸化脂質の蓄積が顕著であったことから、その機序として高脂肪食負荷に誘導される脂質の酸化亢進が底辺にあると考えられる。母体側において脂質系各因子の数値が亢進していたので、母体で酸化された脂質が直接的に胎仔に移行したとも考えられるが、酸化脂質の蓄積において脳の領域間で差があったことから、胎仔側要因も関与していると考えられる。

高脂肪食負荷を行った母体の産仔海馬では神経新生の低下が観察された。この原因としてはやはり脂質酸化の亢進を想定している。実際、酸化脂質の蓄積は神経系前駆細胞においても認められており、また神経新生に影響を及ぼすもう一つの要因であるグルココルチコイド系については我々の解析では有意な差を見いだせなかったことがこれを支持する。BDNF の低値については産生能の詳細な解析は行っていないので、機序は不明であるがやはり同様に脂質酸化の亢進がベースにあると考えている。また、これら海馬神経新生の変化が仔の空間学習の獲得過程での変化を引き起こしたと想定している。特に、新生神経細胞の樹状突起に形態変化を認めたことは重要で、今後神経回路学的な解析を重ねることで、行動変化を説明する機能形態学的な分子基盤を明らかにすることができると考えている。

今回の研究成果は子供の発達障害など精神・神経疾患の発症機序解明や予防法構築に貢献すると考えられる。特に、今回の実験条件では体重を除き仔に認められた諸変化は全て成体期には消失していた。今後、各種チャレンジテスト(ストレス負荷など)などを行い潜在的な易罹病性がないかどうか検討を要するが、これまでの結果は、離乳後の仔の食環境が脳機能変化を非可逆性にしないうえで重要であることを意味する。すなわち、発達障害などの予防のための介入点として「食」が候補であることを示す。また、易罹病性の解析結果にも影響を受けるが、母体食環境も脳と心の疾患に対して予防の介入点になると十分に考えられる。この点に注目し、次項では母体の食制限について研究を行った。

4. 4 母体食環境が子の脳機能発達に影響する機序の同定—食制限 (神経研究所グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

1) 実施方法

前段の研究と異なり、母体の摂餌制限が子の脳機能発達に及ぼす影響をマウスで解析した。その社会的背景として昨今の若い世代のやせ願望を考慮した。前段の研究と対比させるため前段で用いた食環境の変化期間を当初導入し、制限量は50%、70%を設定したが、いずれにおいても妊娠前からの摂餌制限は妊娠率の低下、また妊娠期の摂餌制限は産仔数の低下を招いた。産仔の行動解析を主とする研究目的から産仔数の低下は解析に支障を来すので、本項では授乳期のみ摂餌制限を導入することにした。制限率は50%の場合、産仔の生存率に低下を招いたので70%制限で研究を行うことにした。

2) 実施内容

A) 授乳期雌マウスの摂餌制限

C57BL/6J マウスを使用し、8週齢での妊娠成立から離乳に到るまでの体重の日別推移と摂餌量の日別推移の標準データを作成した。そのデータに基づき、出産後離乳に到るまでのPD1からPD21まで通常群には標準量を、制限群には上記データより算出された標準値の70%量を与えた。

B) 産仔の解析

体重、身長を経時的に測定するとともに以下の項目を実施した。

血液化学解析: 生後3週、15週で血糖、コレステロール、トリグリセリド、成長ホルモン、甲状腺ホルモン、レプチン、コルチコステロン、CRHを測定した。

行動の解析: オープンフィールド試験(生後3, 8, 30週)、hole board試験(生後4, 9, 31週)、高架式十字迷路試験(生後5, 10, 33週)、rotor-rod試験(生後4, 13, 33週)、wire hang試験(生後4週)を実施した。

モノアミン解析: P22における大脳皮質(前頭皮質)、海馬、扁桃体、線条体、黒質のモノアミン量をHPLCにて定量した。

3) 成果

A) 母体の解析

コレステロール、トリグリセリドは低値であったがそれ以外の血液科学に変化はなく、また哺育行動に著変を認めなかった。

B) 産仔の解析

a) 体重(→体重低下は成体期まで持続)

摂餌制限した母体の産仔は生後10週まで軽度であるものの有意な体重低下が認められた。それ以降体重差は見いだせなかった。なお胎生期の体重に差はなく、また産仔数は対照群との間に有意な差は見いだせなかった。

b) 血液化学等

授乳期に摂餌制限した母体の産仔は幼若期においてコレステロール、トリグリセリドの上昇、レプチンの低下を認めたが、成体期においてはいずれの指標も変化を示さなかった。

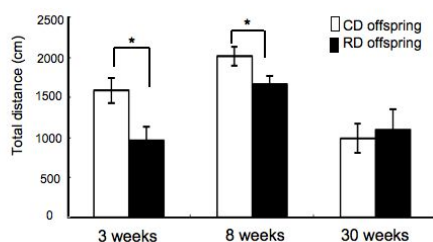
c) 脳重量解析

授乳期に摂餌制限した母体の産仔は幼若期、成体期いずれにおいても脳重量の低下を認めた。

d) 行動の解析(→不安様行動の増加)

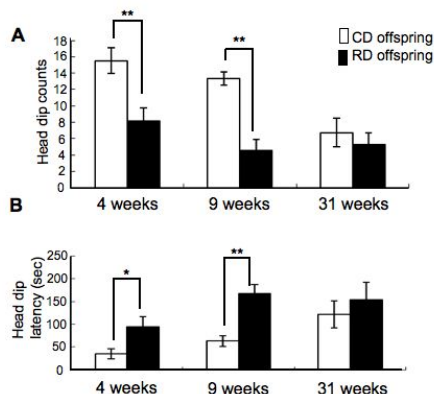
授乳期に摂餌制限した母体の産仔はオープンフィールド試験で生後3週と8週において総移動距離とrearing回数で低下を認めた。Hole board試験ではhead dip latencyの延長、head dip countsの低下および中心滞在時間の低下を生後4週と9週に認めた。高架式十字迷路試験では総移動距離の低下を生後5週と10週に認め、生後5週ではrisk assessmentの低下を認めた。これらの試験を30週以降に行った場合、いずれの試験においても対照群との間に差を見いだせなかった。また、rotor rod試験、wire hang試験ではいずれの週齢においても変化を認めなかった。これらの結果は幼若期から成体期にかけて不安様行動が亢進していることを示唆する。

図 13



授乳期に摂餌制限した母体の産仔は幼若期から成体期にかけて活動量の低下を認めた。

図 14



授乳期に摂餌制限した母体の産仔は幼若期から成体期に不安様行動の亢進を認めた。

e) 脳内モノアミン量の解析

解析した脳領域においてセロトニン、ドパミン、およびそれらの代謝産物の量に変化を認めなかった。

4) 成果の位置づけと類似研究との比較

前段にも記載したように母体の食習慣が産仔の脳機能発達に及ぼす影響を分子レベルで解析した研究は世界的にも大変少ない。今回、若い世代のやせ願望、それに伴う BMI 低値の若い女性の増加という社会的事象を反映した研究をマウスで実施したが、その結果、母体の授乳期の摂餌制限は持続的な脳重量の低下を招き、また幼若期から成体期にかけて仔の不安様行動の増加を誘導するという事実を発見することとなった。脳内モノアミン量に変化を見いだせず、行動変化を説明する分子機序や神経回路学的基盤の解析はまだこれからであるが、レプチンの低下を認めているので、代謝・脳ネットワークに焦点を当て、それらの実態を明らかにする予定である。

今回の研究成果は前段同様に子供の発達障害など精神・神経疾患の発症機序解明や予防法構築に貢献すると考えられる。特に、今回の実験条件では脳重量を除き仔に認められた諸変化は全て生後 30 週以降には消失していた。今後、各種チャレンジテスト(ストレス負荷など)などを行い潜在的な易罹病性がないかどうか検討を行う予定である。また、吉川・大日向チームからは母乳成分からマウスの不安様行動を軽減する物質を複数見いだ

している。今後、同チームとの協力関係を継続し、発達障害などの予防のための介入点として母体食環境、特に授乳期の食環境の重要性を確立する予定である。

4.5 母体 enriched 環境が子の脳機能発達に影響する機序の同定（神経研究所グループ）

(1)研究実施内容及び成果

1)実施方法

4.1に述べた母体の enriched environment 環境における飼育が胎仔神経新生、産仔の行動に及ぼす影響を前段までの手法に則り解析した。

2)実施内容

A) 母体環境の変動

C57BL/6J マウスを使用し妊娠前2週間から2群に分け、1群は通常飼育、もう1群は enriched な環境で出産まで飼育した。出産後産仔は通常飼育されていた里親に哺育させた。

B) 産仔の解析

胎仔(E18)の海馬神経新生についてBrdUを用い神経系前駆細胞の増殖を測定した。また、生後7週にオープンフィールド試験を実施した。

3)成果

A) 産仔の解析

a) 胎仔海馬神経新生の解析

enriched な環境で飼育された母体マウスの胎仔では雌雄ともに BrdU 陽性細胞の数が減少した。その差は雌で有意であった。

b) 行動の解析(→不安様行動の増加)

オープンフィールド試験では enriched な環境で飼育された母体マウスの胎仔では雌雄ともに移動量が減少した。その差は雌で有意であった。また雌で中央滞在時間が有意に増加した。

4)成果の位置づけと類似研究との比較

本段の研究はまだ preliminary な状態にあり、分子機序の解明だけでなく、行動を含む産仔の脳機能形態学的解析はこれからも継続しないとはいけませんが、現在までの結果からは、成体における enriched environment は成体海馬神経新生を増加させる方向に作用するのに対し、母体の enriched environment は逆に胎仔において神経新生を抑制する方向に作用させる可能性が示唆される。また雌雄差についても今回は差が得られる結果となった。この原因・機序は現時点ではまだ不明であるが、脳機能発達の sexual dimorphism を考える上で重要であると考えられる。行動についても不安様行動の亢進が特に雌で示唆されるが、他の行動試験との併用による表現型の確定、その分子機序、神経回路学的基盤の解明は今後の課題である。

(2)研究成果の今後期待される効果

まず今回の研究から生み出された成果を集約すると、

a) 母子伝達物質を実際に同定した(グレリン、BDNF)。グレリンについては母体での高値が子の脳機能発達、特にストレス反応性に影響する可能性を見いだした。

b) 母体の食環境変化が確かに子の脳機能発達に影響することを見いだした。

にまとめることができる。母体環境、母子生体内環境と子供の発達に関する研究は一部の疫学研究を除きまとまったデータというものが存在せず、またその作用機序に関しては毒性作用による病理学的解析が主体であった。脳機能発達にまで踏み込んだ研究は脳神経

科学の分野においても希なものであり、本研究のめざした母子間バイオコミュニケーション研究は、その概念構築や母子伝達物質の同定という結果と合わせ、今回相当の成果を上げたと考え。ちなみに母子間バイオコミュニケーションという用語は我々の創造であるが、母子間バイオコミュニケーションの提唱を我々の研究も含めて内外の研究を紹介する形で英文総説として表すこともできた。今後は用語として確立していくことを期待したい。

本研究の今後の展開の見込みであるが、母子関係に焦点を当てた場合と、広く脳と環境という観点に分け議論したい。まず、母子関係に焦点を当てた場合であるが、動物を用いたさらなる母子伝達物質の同定とその作用機序の解明はもちろんのことであるが、やはり、今回見いだされた現象も含め臨床研究への展開が今後必要な項目となる。グレリンやBDNFはヒトにおいても母子伝達物質として作用し、子の脳機能発達に関わるのか、高脂肪食摂取はヒトにおいても幼若期の子供の脳機能に影響するのか、は解決せねばならない問題である。本研究の申請時において臨床的疫学研究を計画したが、疫学研究に関する倫理指針等に照らした場合に、動物でのエビデンスがまだ不足している状態であったので、申請を見送らざるをえないこととなった。この点については研究計画の修正ということになったが、当初の計画をこれからも推進するべく、今後疫学研究、臨床研究が実施できるよう引き続き霊長類を含む動物でのデータの蓄積を行う。なお、このような動物研究から臨床研究に向かう方向性以外に、逆に臨床研究から基礎研究に向かう方向性についての研究も重要である。実際に母子関係に関して妊娠母体の臨床情報と子供の生後発達に関する前向きコホート研究が名古屋大学を始め国内外の機関で計画・実施され始めている。今後このような臨床疫学研究と共同研究体制を構築することで、これまでの研究の発展的展開に臨みたい。

またもちろん、今回見いだすことができた物質や機序を掘り下げることが必要である。これは後にも触れるが、環境因子が脳に及ぼす機序の一つ一つのステップが明らかになって初めて全容解明といえるものである。脳内環境受容メカニズムのみならず胎盤の反応性を含め多方面から解析を加える予定である。

さらに今回、胎仔から母体に移行する物質についても研究を行った。成果についてはこれからであるが、この様な視点での研究は世界的にも少ない。妊娠出産を機に嗜好性や免疫性が変化したという経験症例は意外に多く、また悪阻(つわり)の分子の実体も不明である。母体から胎児へ、胎児から母体へという双方向性の物質的情報の流れが解明されれば、産科小児科学だけでなく、栄養学や教育学など幅広い分野に対して科学的な議論が可能なる状況を生み出すと考える。吉川・大日向チームからは母乳成分から脳に作用する物質の同定と機能解析が実施されたが、今後も同チームとの協力関係を継続することで発達障害などの予防のための介入点として母体食環境、特に授乳期の食環境の重要性等についても研究を継続する予定である。なお、母子に関する我々の研究論文を見て、“Reproductive and Developmental Toxicology”のタイトルで刊行予定の本に一章分の原稿依頼があり、またスイスの Swiss Federal Institute of Technology Zurich (ETH) からわざわざ研究議論のために Prof. Joram Feldon が来所した (ETH はヨーロッパで 5 指に、全世界で 20 指に入る大学である) ことは、我々の研究が着実に世界に浸透していていることを意味するものと捉えている。

他方、広く脳と環境という観点からの議論であるが、意外に脳と環境の研究についてはその解析手段がモデルも含めて少ないことは注目に値する。すなわち、環境要因の変動を数値的に十分捉えられない場合が多いこと、環境因子が成体におけるどの分子にどのように作用するのかという機序が不明であることなどがその原因となっている。このような状況の中で、我々は母子関係が一つの理想的なモデルを形成すると考えた。胎児にとって母体は環境そのものであり、母体環境の変動は母体の生体内情報の変化であり、これは数値として表しやすい。したがって我々の母子のモデルは先行モデルとしての価値を確実に形成したと考える。今後は、母体環境の変動が子に与える影響を老後まで追跡するとともに、2 世代だけでなく 3 世代以上にわたる影響についても検討する予定である。他方、生後の環境と脳機能の関連性に関する研究については、有効なモデルの構築と効果的な解析手

段の構築が必要と考えている。

さて、波及効果であるが、胎教など俗説・風評の多かった分野に対して科学的メスが入り始めたという点で今後も評価されると考える。心理学と脳科学の融合的発展はこれから必要な事象であるが、教育論をはじめ、哲学に到るまでの幅広い分野に対して、生物学的姿勢に基づいた議論を可能にしていきたいと考えている。また、保健・医療の分野においても発達障害の防止を始め、脳と心の病気に関して環境因子を介入点にする新たな医学の構築につながっていくと期待される。

4. 6. 母子伝達物質の同定と解析(ヒト母乳・大型動物乳腺分泌物の解析)(京都大学グループ) (1)研究実施内容及び成果

概要:母子伝達物質の同定と解析について、ヒト母乳・牛乳消化産物中から新規の生理活性ペプチドを単離し、齧歯類で個体投与した際の学習促進作用や情動調節作用について行動科学的に解析するとともに、その作用機序を生化学的に解析する。

ヒト母乳や牛乳タンパク質に由来する生理活性ペプチドを探索し、最終的に、げっ歯類への経口投与で学習作用および情動調節作用を示す4種類の低分子ペプチドを見出した。

4. 6. 1. 牛乳β-ラクトグロブリン由来のβ-ラクトテンシンの神経調節作用

a) β-ラクトテンシンの学習促進作用

摘出モルモット回腸(GPI)アッセイはオピオイド評価系として知られるが、オピオイド以外の受容体も発現しており、これらのリガンドスクリーニング系としても有用である。β-ラクトテンシン(His-Ile-Arg-Leu)は、牛乳の乳清タンパク質のおよそ半分を占めるβ-ラクトグロブリンのキモトリプシン消化物からモルモット回腸収縮活性を指標に単離された4アミノ酸残基の生理活性ペプチドである。β-ラクトテンシンは脳腸ペプチドとして知られるニューロテンシンとホモロジーを示し(図15)、2種類のニューロテンシン受容体サブタイプのうちNT₂受容体に選択的な親和性を示す(表1)。これまでにβ-ラクトテンシンはNT₂受容体を介してコレステロール低下作用や胆汁酸分泌促進作用を示す経口投与で有効な生理活性ペプチドであることを見出している。さらに本研究では、記憶学習作用や抗不安作用など神経系に対する作用を行動薬理的に検討した。

まず、記憶学習に及ぼす影響を検討した。明室と暗室からなるステップスルー型受動的回避学習実験装置を使用し、雄性 ddY マウス(20-25 g)の訓練直後にβ-ラクトテンシンを投与し、24 時間後に明室に滞在する時間(600 秒以上をカットオフ)を測定した。β-ラクトテンシン(60 nmol/mouse)を脳室内投与したマウスは明室の滞在時間が増加した(図16)。同様に経口投与した場合にも、用量依存的な明室の滞在時間の増加が認められ、300 mg/kg の投与量では有意な増加を示した(図16)。したがって、β-ラクトテンシンは、脳室内投与および経口投与により記憶学習能を促進することが明らかとなった。次に、β-ラクトテンシンの学習促進作用におけるニューロテンシン受容体の下流の作用機構について検討した。中枢神経系ではニューロテンシンがドーパミンの放出を促進することが知られている。そこで、β-ラクトテンシンによる学習促進作用がドーパミン D₁ および D₂ 受容体を介しているかを選択的アンタゴニストを用いて検討した。β-ラクトテンシンの学習促進作用は、D₁ 受容体アンタゴニストの SCH23390 では阻害されなかったが、D₂ 受容体アンタゴニストの raclopride で阻害されたことから(図17)、β-ラクトテンシンの学習促進作用は D₂ 受容体を介していること明らかとなった。

β-ラクトテンシン投与によるモノアミン類遊離に及ぼす影響を海馬にマイクロダイアリシスプローブを挿入し検討したところ、ドーパミンのみならずセロトニン遊離が増加することが判明した。実際、β-ラクトテンシンの学習促進作用は 5-HT_{1A} 受容体アンタゴニストで阻害されたことから、本ペプチドの学習促進作用にはドーパミン系のみならずセロトニン系も関与していることが明らかとなった。

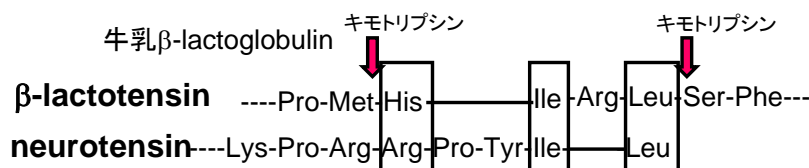
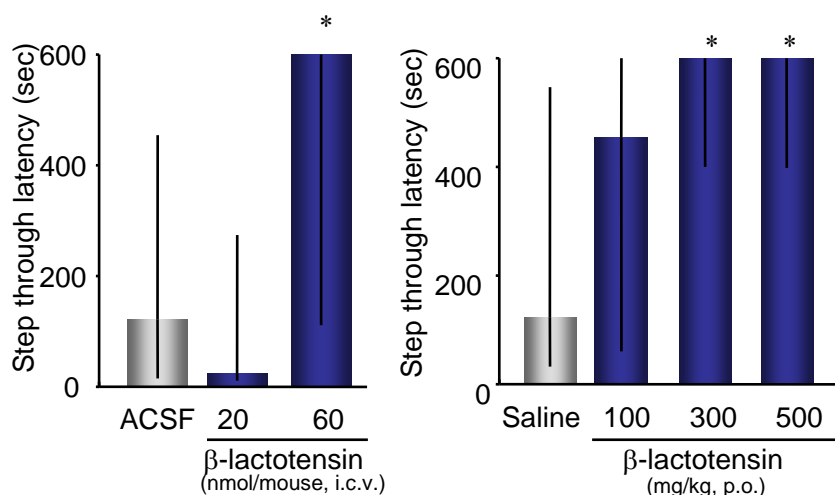


図15. β-ラクトテンシンとニューロテンシンのホモロジー

表1. β -ラクテンシンの NT_1 と NT_2 受容体に対する親和性

	K_i (μ M)		NT_1 / NT_2
	NT_1	NT_2	
neurotensin	0.00012	0.0054	0.022
β -lactotensin	360	7.7	47



Each value represents the median and interquartile ranges. * $P < 0.05$, Mann-Whitney's U test.

図16. β -ラクテンシンの脳室内投与および経口投与による学習促進作用

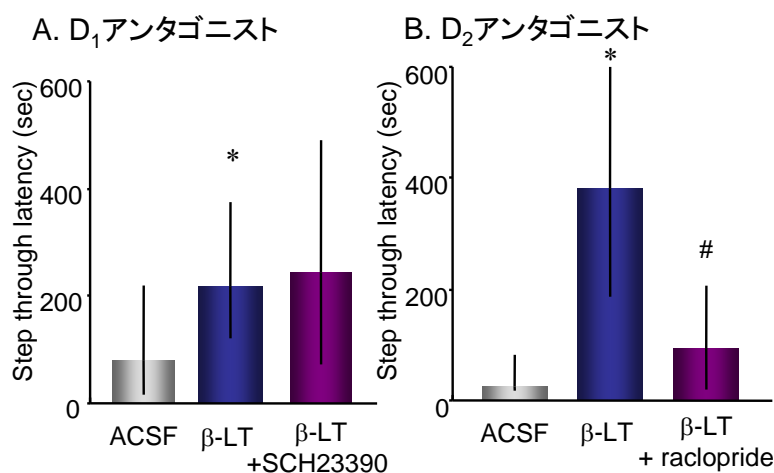


図17. β -ラクテンシン (β -LT) の学習促進作用に及ぼすドーパミンアンタゴニストの影響

b) β -ラクテンシンの抗不安作用

高架式十字迷路試験により β -ラクテンシンの情動調節作用を検討した。高架式十字迷路は、高さ 50 cm の十字迷路で、壁で覆われたクローズドアームと壁で覆われていない オープンアームから構成される。高架式十字迷路の中心にマウスを置きオープンアームへの滞在時間の割合および進入回数を 5 分間観察した。マウスは普通、高い場所を怖がり、壁で覆われたクローズドアームによく入るが、抗不安薬を処置するとオープンアームでの滞在時間と進入回数の割合が増加する。

なお、ペプチドを脳室内投与する場合には、試験 20 分前に、腹腔内および経口投与する場合は試験 30 分前に投与した。

β -ラクトテンシン(10 mg/kg)は経口投与および腹腔内投与によりオープンアームでの滞在時間の割合が有意に増加し(図18)、抗不安作用を示すことを見出した。NT₁ 受容体ノックアウトマウスでは、本ペプチドの抗不安作用が観察されたが、NT₂ 受容体ノックアウトマウスでは抗不安作用が認められないことが判明した(図19)。また、この抗不安作用はドーパミン D₁ 受容体アンタゴニストにより阻害されたことから、NT₂ 受容体の下流で D₁ 受容体を活性化することが明らかとなった。

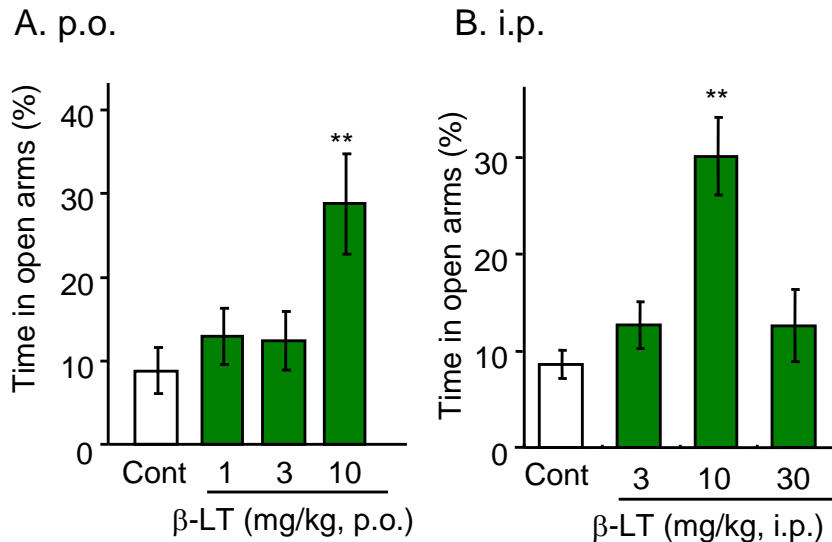


図18. β -ラクトテンシン(β -LT)の経口投与および腹腔内投与による抗不安作用

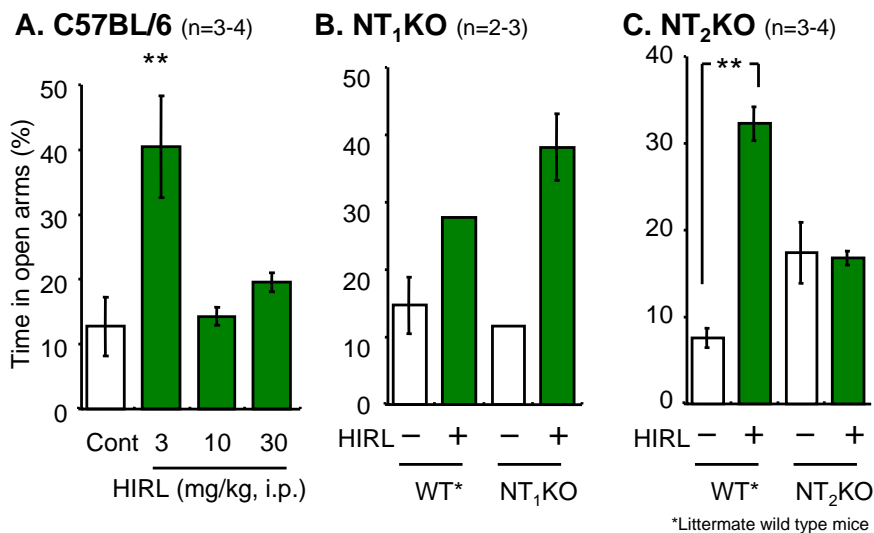


図19. β -ラクトテンシン(HIRL)の抗不安作用は NT₂ 受容体ノックアウトマウスでは観察されない

4. 6. 2. 牛乳 κ -カゼイン由来 Tyr-Val-Leu-Ser-Arg (YVLSR)の抗不安作用

牛乳 κ -カゼインのトリプシン消化物から回腸収縮活性を指標に単離された生理活性ペプチド casoxin C の C-末端5アミノ酸残基に相当する Tyr-Val-Leu-Ser-Arg (YVLSR)に強力な抗不安作用を見出した。本ペプチドは κ -カゼインのトリプシン消化により派生する casoxin C をさらにペプシン消化することにより部分的に生成する。したがって、乳タンパク質を摂取した際に消化管内で YVLSR が派生している可能性が考えられる。

YVLSR の腹腔内投与により、オープンアームへの滞在時間の割合および進入回数の割合が増

加した(図20左)。行動量を示す両アームへの進入回数の合計には差は認められなかった。したがって、高架式十字迷路試験において YVLSR が抗不安作用を示すことがわかった。さらに、オープンフィールド試験を行ったところ、YVLSR 投与により、中心部分の滞在時間が延長し、本試験においても抗不安作用を示すことが判明した(表2)。したがって、二つの評価系において、YVLSR は抗不安作用を示すことが明らかとなった。次に、YVLSR の経口投与(0.3 mg/kg)による影響を高架式十字迷路試験で評価したところ、オープンアームでの滞在時間および進入回数の割合が増加し、本ペプチドは経口投与でも作用することがわかった(図20右)。さらに、高架式十字迷路試験により作用機構を検討した。

YVLSR の経口投与による抗不安作用は、 δ オピオイド受容体アンタゴニストの naltrindole の脳室内投与により阻害された(図21)。なお、 μ アンタゴニストの naloxone では阻害されなかった。YVLSR は、 δ 受容体に対する親和性を示さず、かつ、マウス輸精管(MVD)を用いた δ オピオイド活性も示さなかった。以上の結果より、YVLSR は、内因性 δ オピオイドリガンドの遊離促進により、中枢の δ 受容体を活性化しているものと考えられる。

一方、YVLSR の抗不安作用は、プロスタグランジン(PG)の生合成に関与するシクロオキシゲナーゼの阻害剤 indomethacin ではブロックされなかったことから、YVLSR の抗不安作用には PG 類は関与しないことが判明した。ちなみに、前述の casoxin C は弱いながら抗不安作用を有するが、casoxin C の抗不安作用は indomethacin でブロックされることから、YVLSR とは作用機構が全く異なることが明らかとなった。

現在、YVLSR の直接結合する受容体の同定を試みているが、非常に強力な抗不安ペプチドである YVLSR の標的受容体が明らかになれば、新規の抗不安機構を解明することができるだけでなく、新しい創薬のターゲットになりうる。

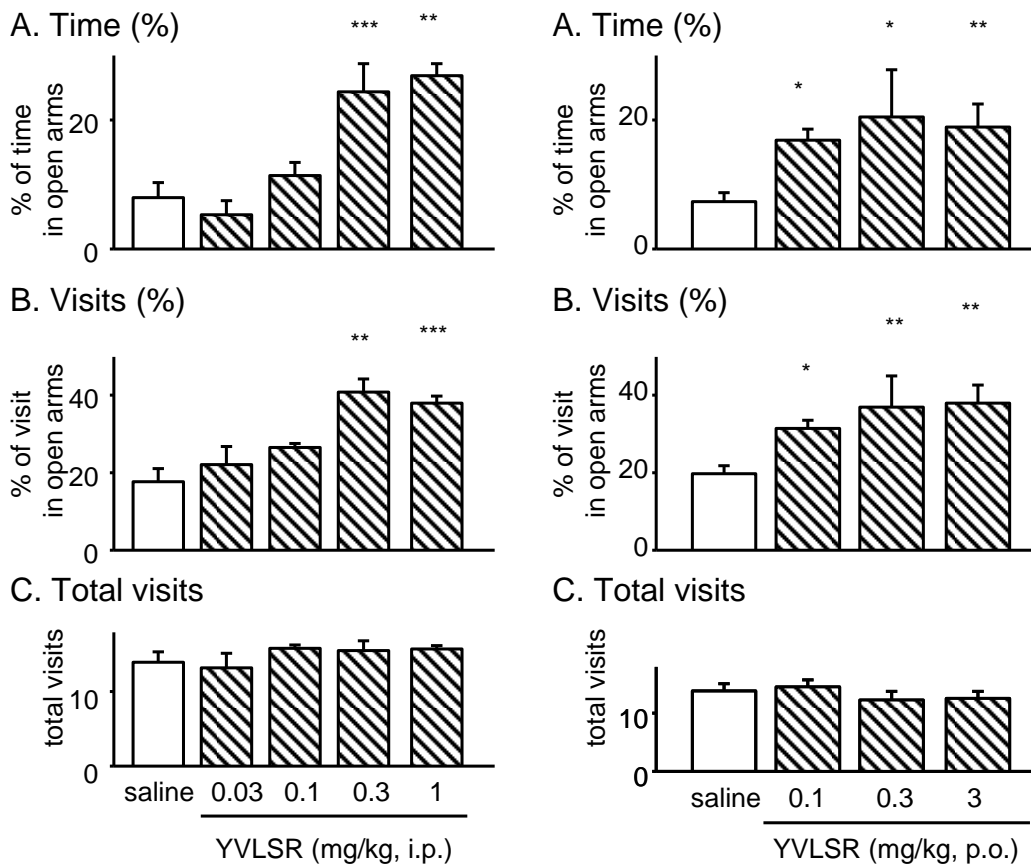


図20.高架式十字迷路試験による YVLSR の腹腔内(左)および経口投与(右)による抗不安作用

表2. オープンフィールド試験による YVLSR(0.3 mg/kg, i.p.) の抗不安作用

	saline	YVLSR
locomotor activity	2729 ± 188	2879 ± 253
% of time in center circle	1.03 ± 0.23	2.55 ± 0.62 [*]
rearing	41.8 ± 5.0	67.3 ± 5.2 ^{**}
grooming	2.50 ± 0.76	4.50 ± 0.43 [*]

Results are expressed as the mean ± SEM (n = 5). ***P*<0.01, compared with the saline-treated control group.

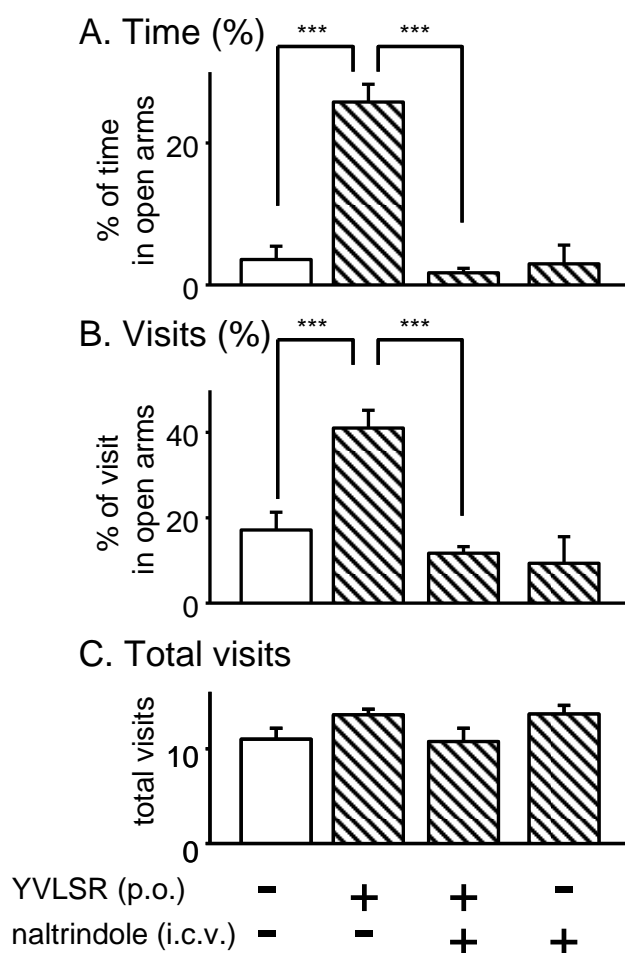


図21. YVLSR の抗不安作用はδオピオイドアンタゴニストの中枢投与で阻害される

4. 6. 3. ヒトラクトフェリン由来の補体 C5a アゴニストペプチド ラクトメジン 1 の抗不安作用

ラクトフェリンはヒト母乳では主要なタンパク質である。ヒトラクトフェリンのトリプシン消化物から回腸収縮活性を指標にして2種類のペプチドFKDCHLAR およびCFQWQRを単離し、lactomedin 1 および2と命名した。両ペプチドはそれぞれ、補体 C5a 受容体および vasopressin 受容体に対して親和性を示した。ラクトメジン 1 の回腸収縮活性は補体 C5a との間でクロスタキフィラキシーを起こすことから、C5a アゴニストとして作用することが明らかとなった。さらに、高架式十字迷路を用いた行動学的検討を行い、ラクトメジン 1 をマウスに経口投与することにより抗不安作用を示すことを見出した(図22)。この結果は免疫系と神経系の新しいクロストークを示している。現在、補体 C5a に

は補体 C5a 受容体と C5L2 受容体の 2 種類のサブタイプが知られており、いずれも中枢神経系に存在する。そこで、さらにラクトメジン 1 の抗不安作用がいずれのサブタイプを介しているかを各受容体に対するアンチセンス ODN を用いて検討した。その結果、ラクトメジン 1 の腹腔内投与による抗不安作用は C5a 受容体アンチセンス ODN の脳室内投与により阻害される一方、C5L2 受容体アンチセンス ODN では阻害されないことを見出し、本ペプチドによる抗不安作用は中枢の C5a 受容体を介することを明らかにした(図23)。さらに、補体 C5a 自身の脳室内投与により抗不安作用を示すことも見出した。また、lactomedin 1 の抗不安作用は、COX 阻害剤およびプロスタグランジン (PG)_{D2} 受容体(DP₁)アンタゴニストによりブロックされることから、この抗不安作用は PGD₂ の放出促進を介していることが判明した。さらに、PGD₂ 自身の情動調節作用を検討し、PGD₂ も同様に DP₁受容体を介して抗不安作用を有することを明らかにした(図24)。

ラクトメジン 1 ならびに補体 C5a による抗不安作用は、アデノシン A_{2A} 受容体および GABA_A 受容体に対するアンタゴニストで阻害されることを見出し(図25)、PGD₂ の睡眠誘発作用と同じメディエーターを介することを明らかにした。PGD₂ 自身の抗不安作用も新たに見出しているが、この抗不安作用も A_{2A} および GABA_A 受容体を介することが判明した。

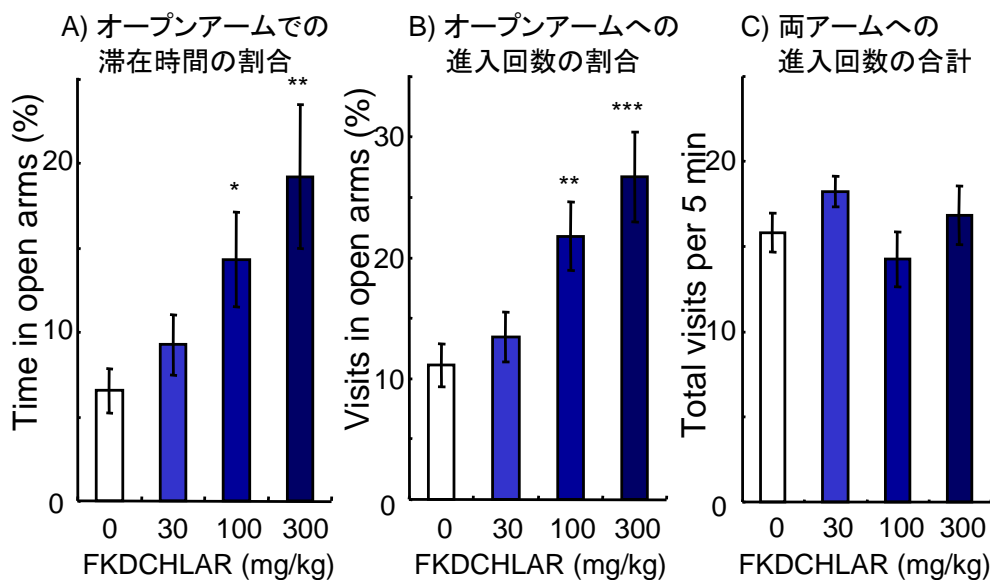


図22. ラクトメジン1(FKDCHLAR)の経口投与による抗不安作用

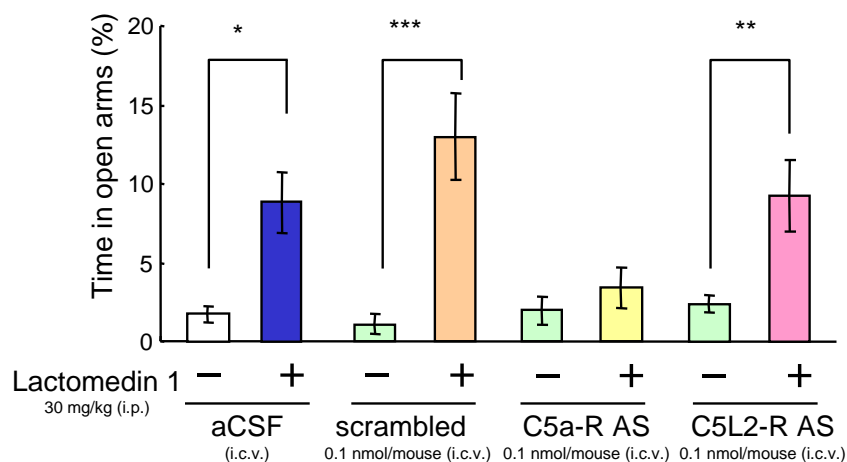


図23. ラクトメジン1の抗不安作用に対するアンチセンスオリゴヌクレオチドの影響

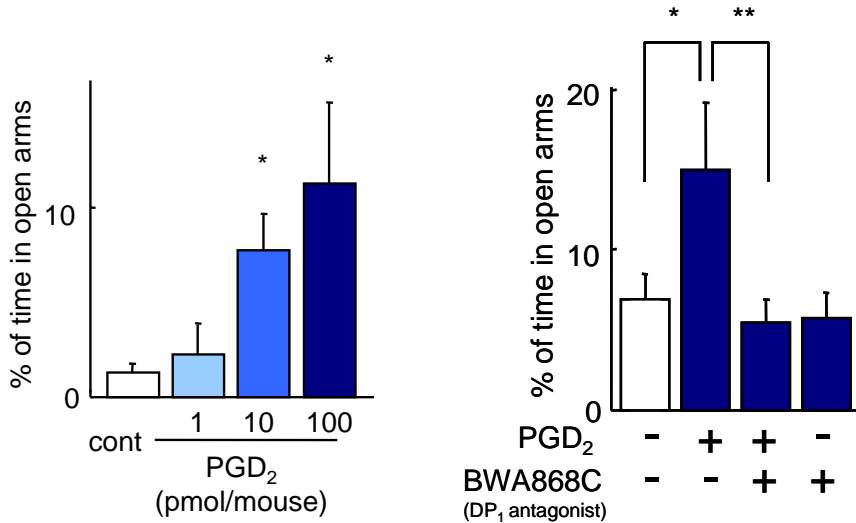


図 24. PGD₂ の中枢投与による抗不安作用と DP₁ 受容体の関与

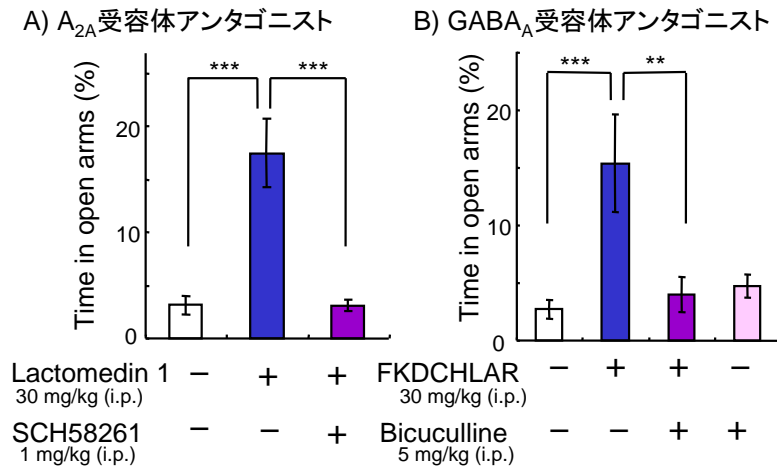


図 25. ラクトメジン 1 の抗不安作用はアデノシン A_{2A} および GABA_A 受容体の活性化を介する

4. 6. 4. ラクトフェリン由来のアンジオテンシン変換酵素阻害ペプチド lactopril の記憶増強作用

Leu-Arg-Pro (LRP)はトウモロコシゼイン由来のアンジオテンシン変換酵素(ACE)阻害ペプチドとして見出されたペプチドであり、食品由来のペプチドとしては最も強力な阻害活性(IC₅₀ = 0.21 μM)を示すペプチドである。本ペプチド配列は多くの動物のラクトフェリン中にも存在するが、消化管プロテアーゼの作用のみでは遊離しない。我々は、牛乳ラクトフェリンをペプシンおよびトリプシンで消化することにより、ACE 阻害活性を有するLRPVA (IC₅₀ = 0.7 μM)というペプチドがまず生成し、本ペプチドの C 末端の2残基がアンジオテンシン変換酵素そのものによって除去されることにより、約 3.3 倍強力な ACE 阻害作用を有する LRP に変換されることを見出した(図26、27)。すなわち、LRPVA はプロドラッグ型の ACE 阻害ペプチドに分類できる。本ペプチドを lactopril と命名した。自然発症高血圧ラット(SHR)に経口投与した際に、LPRは投与2時間後に最大の血圧降下作用を示すのに対し、lactoprilは投与4時間後に最大の血圧降下作用を示した(図28)。これは、5 アミノ酸残基からなる lactopril の腸管吸収が3 アミノ酸残基の LRP より遅いことや、体内で lactopril から LRP への変換に時間を要することを反映していると考えられる。一方、step-through 装置を用いた受動的回避実験において、lactoprilはマウスへの腹腔内投与(0.15 mg/kg)、および経口投与(15 mg/kg)により、記憶増強作用を示したが(図29、30)、LRP は同様な作用を示さなかった。この差は、ACE 阻害ペプチドが記憶増強作用を示すには、作用の持続性が重要であることを示唆し

ている。lactoprilの記憶増強作用はコレシトキニン CCK₂レセプターに対するアンタゴニストであるLY225910 によってブロックされた。lactoprilは CCK₂レセプターに対する親和性を示さないこと、また、コレシトキニンはACEにより分解されることが知られていることから、lactoprilは記憶増強作用を有するコレシトキニンの分解を抑制し、その脳内レベルを高めることによって、記憶増強作用を示すと考えられる。

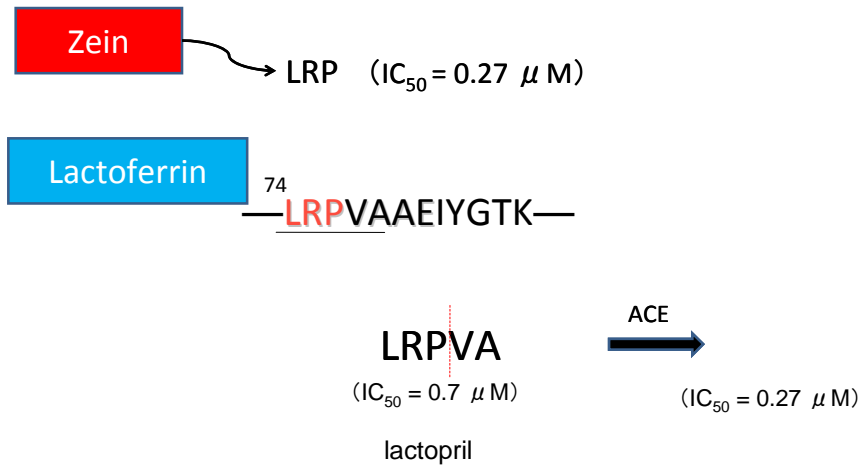


図26. 強力な ACE 阻害ペプチド LRP を含むプロドラッグ型 ACE 阻害ペプチド LRPVA (lactopril) の生成

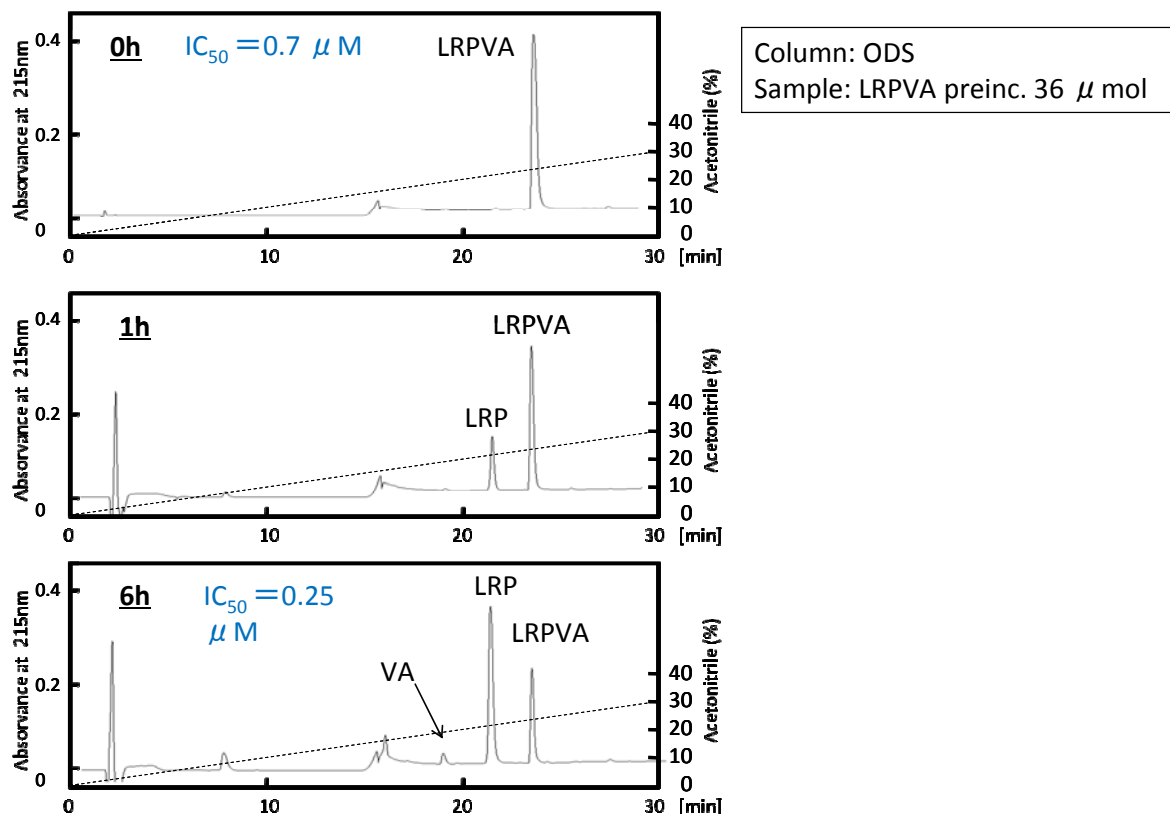
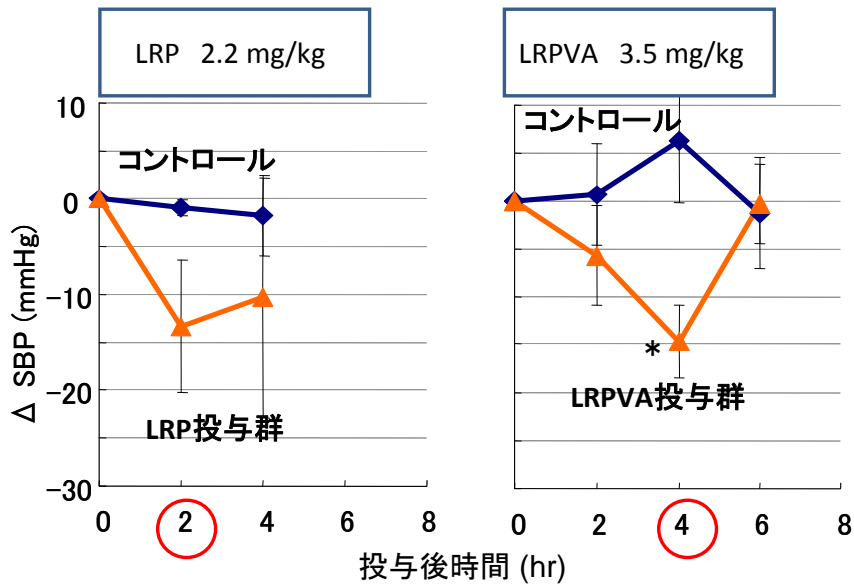
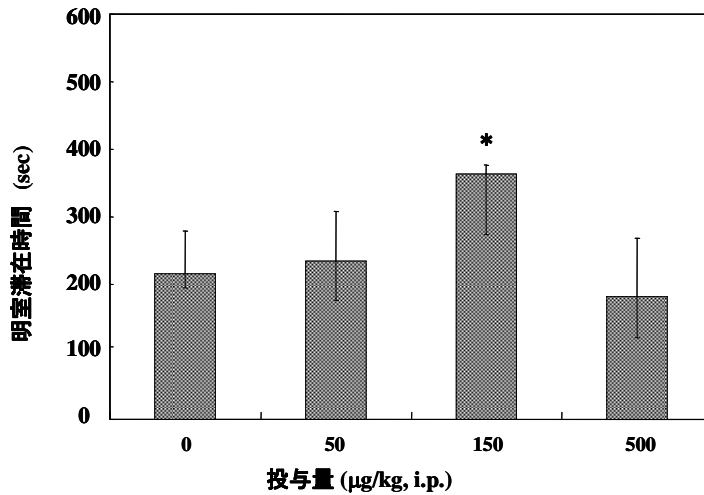


図27. ACE による LRPVA (lactopril) から LRP への変換



30-37週齢のSHRを使用。サンプルは30%卵黄エマルジョンに溶解。* p<0.05

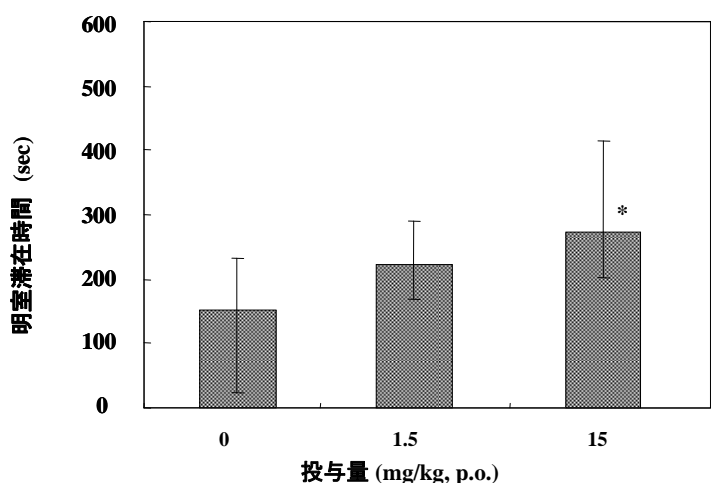
図28. LRP および lactopril の血圧降下作用(Tail Cuff 法)



Lactoprilは訓練試行直後に投与し、24時間後にテスト試行を実施した。

*P<0.05 vs saline control after Mann-Whitney's U test.

図29. lactopril の腹腔内投与による記憶増強作用



Lactoprilは訓練試行直後に投与し、24時間後にテスト試行を実施した。
*P<0.05 vs saline control after Mann-Whitney's U test.

図30. lactopril の経口投与による記憶増強作用

(2) 研究成果の今後期待される効果

ヒト母乳由来成分の原料確保は困難が伴うが、牛乳タンパク質は工業的利用に適している。この牛乳タンパク質に由来する2種類の生理活性ペプチドに関しては、学習促進作用および抗不安作用を有する機能性食品の開発に結びつく可能性がある。また、 β -ラクトテンシンは食品タンパク質由来のニューロテンシン NT_2 受容体リガンドとしては初めての例であり、 NT_2 受容体の機能解明のためのプローブとして非常に利用価値が高い。既に NT_2 受容体が学習促進や情動調節に関与していることを、 β -ラクトテンシンや NT_2 受容体ノックアウトマウスを用いて明らかにしている。さらに、 NT_2 受容体を介する新しい生理機能の解明にも貢献するものと考えられる。

もうひとつの牛乳由来の YVLSR は経口投与で抗不安作用を示すが、この抗不安作用は δ オピオイド受容体アンタゴニストの naltrindole の脳室内投与で完全にブロックされた。しかしながら YVLSR は δ オピオイド受容体と親和性を示さず、かつ、摘出マウス輸精管 (MVD) を用いた δ オピオイド活性を示さないことから、中枢の δ オピオイド系を間接的に活性化すると考えられる。これまで我々は δ オピオイド受容体の活性化により学習促進作用が認められることを明らかにしており、本ペプチドにも学習促進作用が期待される。また最近、 δ オピオイドアゴニストペプチドの経口投与により普通食の摂食量を促進する一方、予め高脂肪食を与えた場合にはむしろ摂食抑制作用を示すことを初めて明らかにし、 δ オピオイド系が食嗜好の正常化に寄与する可能性を見出した。YVLSR についても摂食調節作用が期待される。実際、YVLSR を脳室内投与した際に、普通食の摂食促進作用が認められるという予備的結果を得ている。なお、本ペプチドの実用化に向け、JST の支援により既に国内特許を出願しており、さらに国際特許申請の手続きを進めている。

現在、YVLSR が直接結合する受容体を検討している。GPCR に作用しているのではないかという仮説をもとに、まず細胞内 Ca^{2+} や cAMP の変動を検討し候補受容体の絞込みを図っている。本ペプチドの標的分子が明らかになれば、創薬や機能性素材の新しいターゲットとして着目される。

本研究により、ヒト母乳の主要タンパク質ラクtofelin に由来する低分子ペプチドのラクトメジン 1 が、経口投与で免疫促進作用と抗不安作用を示すことを新たに見出し、免疫系と神経系の新しいクロストークを明らかにした。ラクトメジン 1 はヒトラクtofelin の一次構造中のみ存在し、ウシ型ラクtofelin には存在しない。現在、ウシ型ラクtofelin が粉ミルク中に添加されているものもあるが、ウシラクtofelin からは lactomedin1 に相当する補体 C5a 受容体アゴニストペプチドは派生しない。今後、本ペプチドが乳児の脳機能発達にどのように寄与しているか詳細な検討が必要である。

lactopril は今回得られた、乳タンパク質由来のペプチドのうち、すべての動物から派生する唯一

のペプチドであるが、人乳のラクトフェリン含有量は初乳で 2 mg/ml、常乳で 5 mg/ml であり、牛乳ではその 1/10 程度である。また、lactopril の分子量はラクトフェリンの約 1/100 であることから、今回、マウスに対する記憶増強作用が認められた lactopril 15 mg/kg の経口投与による記憶増強作用が通常の哺乳条件でも起こるかどうか疑問であるが、今後、さらなる検討を要する。

§ 5 成果発表等

(1)原著論文発表 (国内(和文)誌 0 件、国際(欧文)誌 22 件)

(神経研究所グループ)

1. Tozuka, Y., Kumon, M., Wada, E., Onodera, M., Mochizuki, H., Wada, K. Maternal obesity impairs hippocampal BDNF production and spatial learning performance in young mouse offspring. **Neurochem. Int.** 57, 235-247, 2010.
2. Yamamoto, K., Yamada, D., Kabuta, T., Takahashi, A., Wada, K., Sekiguchi, M. Reduction of abnormal behavioral response to brief restraint by information from other mice in dystrophin-deficient mdx mice. **Neuromuscl. Disord.** , 20, 505-511, 2010.
3. Yamada, D., Wada, E., Amano, T., Wada, K., Sekiguchi, M. Lack of neurotensin type 1 receptor facilitates contextual fear memory depending on the memory strength. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, 96, 363-369, 2010.
4. Kumon M, Yamamoto K, Takahashi A, Wada K, Wada E. Maternal dietary restriction during lactation influences postnatal growth and behavior in the offspring of mice. **Neurochem Int**, 57, 43-50. 2010
5. Suzuki, M., Setsuie, R., Wada, K. Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase L3 promotes insulin signaling and adipogenesis. **Endocrinology**, 150, 5230-5239, 2009.
6. Yamada D, Zushida K, Wada K, Sekiguchi M. Pharmacological discrimination of extinction and reconsolidation of contextual fear memory by a potentiator of AMPA receptors. **Neuropsychopharmacol.**, 234, 2574-2584, 2009.
7. Kimiwada, T., Sakurai, M., Ohashi, H., Aoki, S., Tominaga, T., Wada, K. Clock genes regulate neurogenic transcription factors, including NeuroD1, and the neuronal differentiation of adult neural stem/progenitor cells. **Neurochem. Int.**, 54, 277-285, 2009.
8. Maruoka, T, Kodomari, I, Yamauchi, R., Wada, E. Wada, K. Maternal enrichment affects prenatal hippocampal proliferation and open-field behaviors in female offspring mice. **Neurosci. Lett.** 454, 28-32, 2009.
9. Tozuka, Y., Wada, E. Wada, K. Diet-induced obesity in female mice leads to peroxidized lipid accumulations and impairment of hippocampal neurogenesis during the early life of their offspring. **FASEB J.**, 23, 1920-1934. 2009
10. Kodomari, I., Wada, E., Nakamura, S., Wada, K. Maternal supply of BDNF to mouse fetal brain through the placenta. **Neurochem. Int.**, 54, 95-98, 2009.
11. Kodomari, I., Maruoka, T., Yamauchi, R., Wada, E., Wada, K. Ghrelin alters postnatal endocrine secretion and behavior in mouse offspring. **Neurochem. Int.**, 54, 222-228, 2009.
12. Amano, T., Wada, E., Yamada, D., Zushida, K., Maeno, H., Noda, M., Wada, K., Sekiguchi, M. Heightened Amygdala Long-Term Potentiation in Neurotensin

Receptor Type-1 knockout Mice. **Neuropsychopharmacology**. 33, 3135-3145, 2008.

13. Sakurai, M., Sekiguchi, M., Zushida, K., Yamada, K., Nagamine, S., Kabuta, T., Wada, K. Reduction of memory in passive avoidance learning, exploratory behavior and synaptic plasticity in mice with a spontaneous deletion in the ubiquitin C-terminal hydrolase L1 gene. **Eur. J. Neurosci**. 27, 691-701, 2008
14. Oliveira, K.J., Cabanelas, A., Veiga, M.A., Paula, G.S., Ortiga-Carvalho, T.M., Wada, E., Wada, K., Pazos-Moura, C.C. Impaired serum thyrotropin response to hypothyroidism in mice with disruption of neuromedin B receptor. **Regul Pept**. 146, 213-217, 2008
15. Ohashi, H., Nishikawa, K., Ayukawa, K., Hara, Y., Nishimoto, M., Kudo, Y., Abe, T., Aoki, S., Wada, K. Alpha 1-adrenoceptor agonists protect against stress-induced death of neural progenitor cells. **Eur. J. Pharmacol.**, 573, 20-28, 2007
16. Yamauchi, R., Wada, E., Kamichi, S., Yamada, D., Maeno, H., Delawary, M., Nakazawa, T., Yamamoto, T., Wada, K. Neurotensin type2 receptor is involved in fear memory in mice. **J. Neurochem.**, 102, 1669-1676, 2007
17. Zushida, K., Sakurai, M., Wada, K., Sekiguchi, M: Facilitation of extinction learning for contextual fear memory by PEPA-a potentiator of AMPA receptors. **J. Neurosci**. 27,158-166, 2007
18. Nishimoto, M., Furuta, A., Aoki, S., Kudo, Y., Miyakawa, H. Wada, K: PACAP/PAC1 autocrine system promotes proliferation and astrogenesis in neural progenitor cells. **Glia**, 55, 317-327, 2007
19. Yamauchi, R., Wada, E., Yamada, D., Yoshikawa, M. Wada, K: Effect of beta-lactotensin on acute stress and fear memory. **Peptides**, 27, 3176-3182, 2006
20. Sun, Y.J., Nishikawa, K., Yuda, H., Wang, Y.L., Osaka, H., Fukazawa, N., Naito, A., Kudo, Y., Wada, K., Aoki, S: Solo/Trio8, a membrane-associated short isoform of Trio, modulates endosome dynamics and neurite elongation. **Mol. Cell. Biol.**, 26, 6293-6935, 2006

(京都大学グループ)

21. Zhao H, Ohinata K, Yoshikawa M. Central prostaglandin D₂ exhibits anxiolytic-like activity via the DP₁ receptor in mice. **Prostaglandins Other Lipid Mediat**. 2009 Apr;88(3-4): 68-72.
22. Ohinata, K., Sonoda, S., Inoue, N., Yamauchi, R., Wada, K., Yoshikawa, M. beta-Lactotensin, a neurotensin agonist peptide derived from bovine beta-lactoglobulin, enhances memory consolidation in mice. **Peptides**. 28, 1470-1474, 2007

(2)その他の著作物(総説、書籍など)

- ① 詳細情報

(神経研究所グループ)

1. Tozuka, Y., Wada, E., Wada, K. Bio-communication between mother and offspring:

Lessons from animals and new perspectives for brain science. **J. Pharmacol. Sci.**, 110, 127-132, 2009.

(京都大学グループ)

2. 大日向耕作、吉川正明、食品タンパク質由来ペプチドの多様な神経調節作用、「化学と生物」学術出版センター (in press)
3. 大日向耕作、吉川正明、第 3 章 食品タンパク質由来の生理活性ペプチドによる多彩な神経調節作用、「機能性タンパク質・ペプチドと生体利用」、pp.51-74、建帛社 (2010)
4. 大日向耕作、吉川正明、第 13 章 神経調節ペプチド. 機能性ペプチドの最新応用技術-食品・化粧品・ペットフードへの展開. pp.123-133, シーエムシー出版 (2009)
5. 大日向耕作、吉川正明、プロスタグランジン D₂ の新しい中枢作用-摂食促進作用および抗不安作用-. 「生体の化学」 pp.494-495, 医学書院 (2009)
6. 吉川正明、森口盛雄、南 利子、森 孝明、釣木隆弘、大日向耕作、ヒトラクトフェリン由来の回腸収縮ペプチド lactomedin 1 および 2 の単離と諸性質. 「ラクトフェリン 2009」 pp.109-115, 日本医学館 (2009)

(3)国際学会発表及び主要な国内学会発表

①招待講演 (国内会議 12 件、国際会議 0 件)

(神経研究所グループ)

1. 和田圭司:妊娠・授乳期の母子の関わりと脳機能発達. 独立行政法人科学技術振興機構 (JST)戦略的創造研究推進事業(CREST)研究領域「脳の機能発達と学習メカニズムの解明」第 6 回公開シンポジウム、東京、10.30, 2010
2. 和田圭司:母体の生活習慣と子の脳機能:母子間バイオコミュニケーションの視点から. Neuro2010、神戸、9.4, 2010
3. 関口正幸(国立精神・神経センター神経研究所): 経験と時間による「恐怖神経回路」の再構成. 平成 22 年度生理学研究所研究会「感覚刺激・薬物による快・不快情動生成機構とその破綻」,岡崎, 9.30-10.1, 2010
4. 関口正幸(国立精神・神経センター神経研究所): 経験と時間に依存した Fear Circuit の再構成. 第 11 回八ヶ岳シンポジウム, 長野, 9.26, 2010
5. 和田圭司:親の生活習慣と子の脳発達. 独立行政法人科学技術振興機構(JST)戦略的創造研究推進事業(CREST)研究領域「脳の機能発達と学習メカニズムの解明」第5回公開シンポジウム、東京、11.28, 2009
6. 和田圭司^{1,2}(¹国立精神・神経センター神経研究所、²CREST, JST):物質的な母子間コミュニケーション. 日本学術会議神経関係3分科会合同市民公開シンポジウム. 社会性の脳科学、東京、10.31, 2009
7. 和田圭司^{1,2}(¹国立精神・神経センター神経研究所、²CREST, JST): 生体情報の統合器官と

して脳. 第 52 回日本神経化学会(伊香保)大会、群馬、6.23, 2009

8. 和田圭司¹ (1 国立精神・神経センター神経研究所): 動物から学ぶ子育ての脳科学. 独立行政法人科学技術振興機構(JST)戦略的創造 研究推進事業(CREST)研究領域「脳の機能発達と学習メカニズムの解明」第2回公開シンポジウム、東京、11. 29, 2008
9. Wada, K¹ (1 国立精神・神経センター神経研究所): Mother-child bio-communication: lessons from mice. 第51回日本神経化学会大会, 富山, 9.12, 2008
10. 和田圭司¹ (1 国立精神・神経センター神経研究所): 精神・神経疾患研究とGPCR～発生・再生、記憶・学習、ニューロン、グリア、そして未来～. 第5回GPCR研究会. 東京, 5.9, 2008
11. 和田圭司(国立精神・神経センター神経研究所): 脳を育てる母と子の生物学的な対話. 世界脳週間 2007、東京、5.19, 2007
12. 和田圭司(国立精神・神経センター): 脳発達を支える母子間バイオコミュニケーション. 2006年度第4回生涯学習特講『脳を育む、こころを育てる』. 人間総合科学大学、埼玉、3.17, 2007.

②口頭講演 (国内会議 19 件、国際会議 1 件)

(神経研究所グループ)

1. 関口正幸(国立精神・神経センター神経研究所): 文脈性恐怖記憶の消去学習と再固定に対する AMPA ポテンシエータの弁別修飾. 第87回日本生理学会大会, 盛岡, 5.19, 2010
2. 公文麻美¹、山本和弘¹、高橋明男¹、和田恵津子^{1,2}、和田圭司^{1,2}(¹国立精神・神経センター神経研究所、²科学技術振興機構): 授乳期における母体摂食制限が仔の行動に与える影響. 第 52 回日本神経化学会(伊香保)大会、群馬、6.23, 2009
3. Sekiguchi, M¹., Zushida, K¹., Wada, K¹(¹国立精神・神経センター神経研究所): Time-limited involvement of the medial prefrontal cortex in extinction of contextual fear memory. 第51回日本神経化学会大会, 富山, 9.13, 2008
4. Tozuka, Y¹., Wada, E¹., Wada, K¹ (1 国立精神・神経センター神経研究所): Diet-induced obesity in female mice leads to obesity and peroxidized lipid accumulation during early life of their offspring. 第51回日本神経化学会大会, 富山, 9.13, 2008
5. 和田圭司(国立精神・神経センター神経研究所): 脳発達を支える母子間バイオコミュニケーション. 独立行政法人科学技術振興機構(JST)戦略的創造研究推進事業(CREST)研究領域「脳の機能発達と学習メカニズムの解明」第 5 回領域内研究報告会、大阪、3. 5, 2008
6. 和田圭司^{1,2}、古田晶子¹、和田恵津子^{1,2}(¹国立精神・神経センター、²CREST): アストロサイトに発現する GPCR の機能解析. Neuro 2007. 横浜, 9. 12, 2007
7. Amano T^{1,2}, Wada E^{1,2}, Noda M³, Wada K^{1,2}, Sekiguchi M^{1,2}(¹Dept. of Degenerative Neurological Diseases, Natl. Inst. of Neurosci., NCNP, Tokyo Japan, ²CREST, ³Kyushu Univ. Sch. Phar.): The LTP regulation system by D2 receptor and neurotensin receptor type-1 in the basolateral amygdala. Neuro 2007. Yokohama, 9. 11, 2007.

8. Zushida K¹, Wada K¹, Sekiguchi M¹ (¹Dept. of Degenerative Neurological Diseases, Natl. Inst. of Neurosci., NCNP, Tokyo Japan): Medial prefrontal cortex is involved in extinction learning for recent but not remote contextual fear. “Unraveling Higher Brain functions: Recent Progress with Animal Models II”. “The 2nd MCCA-Asia Symposium. Neuro 2007 Satellite Symposium”. Yokohama, 9. 10, 2007
9. Zushida K¹, Wada K¹, Sekiguchi M¹ (¹Dept. of Degenerative Neurological Diseases, Natl. Inst. of Neurosci., NCNP, Tokyo Japan): Medial prefrontal cortex is involved in extinction learning for recent but not remote contextual fear. Neuro 2007. Yokohama, 9. 10, 2007.
10. 関口正幸(国立精神・神経センター神経研究所):ジストロフィン欠損マウスにおける扁桃体 GABA シナプスの損傷と情動行動の亢進. Neuro 2007. 横浜, 9. 10, 2007
11. Sekiguchi M (Dept. of Degenerative Neurological Diseases, Natl. Inst. of Neurosci., NCNP, Tokyo Japan): Facilitation of extinction learning for fear memory by a potentiator of AMPA receptors. “Unraveling Higher Brain functions: Recent Progress with Animal Models II”. “The 2nd MCCA-Asia Symposium”. Neuro 2007 Satellite Symposium. Yokohama, 9. 9, 2007
12. 和田圭司¹、青木俊介¹(¹国立精神・神経センター神経研究所):マウス神経系前駆細胞における GPCR の機能解析. 神経組織の成長・再生・移植研究会第22回学術集会、岡山、5. 26, 2007
13. Amano T^{1,2,3}, Wada E^{1,3}, Noda M², Wada K^{1,3}, Sekiguchi M^{1,3} (¹Dept. of Degenerative Neurological Diseases, Natl. Inst. of Neurosci., NCNP, Tokyo Japan, ²Laboratory of Pathophysiology, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University, Fukuoka, Japan, ³CREST, Japan Science and Technology Agency, Kawaguchi, Saitama, Japan): Neurotensin receptor type-1 suppresses the long-term potentiation in the basolateral nucleus of amygdala through the modulation of dopamine D₂ receptor. Synapses: From Molecules to Circuits & Behaviour. Cold Spring Harbor Laboratory. U.S.A, April 19, 2007.
14. 天野大樹^{1,2}、和田恵津子^{1,3}、野田百美²、和田圭司^{1,3}、関口正幸^{1,3}(¹国立精神・神経センター神経研究所、²九州大学大学院薬学研究科、³CREST):1型ニューロテンシン受容体は扁桃体外側基底核においてドパミン2型受容体を介したLTP増強を阻害する. 第80回日本薬理学会年会, 愛知, 3.15, 2007.
15. 和田圭司(国立精神・神経センター、CREST, JST):グリア型GPCR:病態との関連と創薬への応用. 第80回日本薬理学会年会, 愛知, 3.15, 2007.
16. 和田圭司(国立精神・神経センター):脳を育む母と子の生物学的な対話. 独立行政法人科学技術振興機構(JST)戦略的創造研究推進事業(CREST)研究領域「脳の機能発達と学習メカニズムの解明」第2回公開シンポジウム. 東京, 12.9, 2006.

(京都大学グループ)

17. 宮本知京^{1,3}、吉田真理子^{1,3}、吉川正明^{2,3}、大日向耕作^{1,3}(¹京大院農・食品生物科学、²阪大院工・FRC、³CREST・JST):中枢神経系における補体C5aのプロスタグランジンD₂を介した精神的ストレス緩和機構. 日本農芸化学会大会 2010、東京、3.27-30, 2010
18. 大日向耕作¹、吉川正明^{1,2}(¹京大院農・食品生物、²阪大院工・FRC):精神的ストレス抑制作用を有する食品タンパク質由来の機能性ペプチド. 第63回日本栄養・食糧学会大会、長崎、

5.21, 2009

19. 井上なつみ¹、大日向耕作¹、吉川正明¹(¹京都大学大学院農学研究科):海馬からのモノアミン放出に及ぼす β -lactotensinの影響. 日本農芸化学会大会、3.27,2008
20. 井上なつみ、平田 創、園田壮司、山内玲奈¹、大日向耕作、吉川正明、(京都大学大学院農学研究科、¹国立精神神経センター):牛乳 β -ラクトグロブリン由来の NT₂ アゴニストペプチド β -lactotensin による記憶増強機構、日本農芸化学会 2007 年大会、東京、3.26, 2007.

③ ポスター発表 (国内会議 31件、国際会議 6件)

(神経研究所グループ)

1. 戸塚祐介^{1,2,3}、公文麻美^{1,3}、和田恵津子^{1,3}、和田圭司^{1,3}(¹国立精神・神経センター神経研究所、²財団法人医療機器センター、³CREST, JST):Maternal obesity impairs hippocampal neurogenesis and spatial cognitive function during the early life of mouse offspring. 第 32 回日本分子生物学会年会、横浜、12.12, 2009
2. 山田大輔^{1,2}、和田圭司^{1,2}、関口正幸^{1,2}(¹国立精神・神経センター神経研究所、²科学技術振興機構・CREST):恐怖記憶の再固定化と消去学習の薬理学的弁別. 第 32 回日本神経科学大会、名古屋、9.17, 2009
3. Yamada D^{1,2}, Wada K^{1,2}, Sekiguchi M^{1,2}(¹Department of Degenerative Neurological Diseases, National Institute of Neuroscience, National Center of Neurology and Psychiatry, Tokyo, Japan, ²Japan Science and Technology Agency, CREST): Pharmacological discrimination of fear extinction and reconsolidation. 第 52 回日本神経化学会(伊香保)大会、群馬、6.22-23, 2009
4. 戸塚祐介^{1,2,3}、和田恵津子^{1,3}、和田圭司¹(¹国立精神・神経センター神経研究所、²財団法人医療機器センター、³CREST, JST):母子間バイオコミュニケーション研究—母体の肥満は仔の生後の海馬ニューロン新生を低下させる—. 神経組織の成長・再生・移植研究会第24回学術集会、群馬、6.21, 2009
5. 戸塚祐介^{1,2}、和田恵津子^{1,3}、和田圭司¹(¹国立精神・神経センター神経研究所、²財団法人医療機器センター、³CREST, JST):母子間バイオコミュニケーション研究—母体の肥満は仔の生後の海馬ニューロン新生を低下させる—. 第3回神経発生若手討論会、愛知、3. 12, 2009
6. 戸塚祐介^{1,2}、和田恵津子^{1,3}、和田圭司¹(¹国立精神・神経センター神経研究所、²財団法人医療機器センター、³CREST, JST):母子間バイオコミュニケーション研究—母体の肥満は仔の生後の海馬ニューロン新生を低下させる—. 独立行政法人科学技術振興機構(JST)戦略的創造 研究推進事業(CREST)研究領域「脳の機能発達と学習メカニズムの解明」第6回領域内報告会、東京、3. 11, 2009
7. 小泊郁子^{1,2}、丸岡貴司^{1,2}、山内玲奈^{1,2,3}、和田恵津子^{1,2}、和田圭司^{1,2}(¹国立精神・神経センター神経研究所、²CREST, JST、³東邦大学薬学部生化学教室): 母体由来グレリンの胎仔脳発達に及ぼす影響. 第 31 回日本神経科学大会、東京、7.9, 2008
8. 西本美香¹、古田晶子¹、和田圭司¹(¹国立精神・神経センター神経研究所):アストロサイト増

殖におけるガストリン放出ペプチド受容体を介した新規分子メカニズムの発見. 第 31 回日本神経科学大会, 東京, 7.11, 2008

9. 小泊郁子^{1,2}, 丸岡貴司^{1,2}, 山内玲奈^{1,2,3}, 和田恵津子^{1,2}, 和田圭司^{1,2} (1 国立精神・神経センター神経研究所, 2CREST/JST, 3 東邦大学薬学部生化学教室): 母体由来グレリンの胎仔脳発達に及ぼす影響. 第 31 回日本神経科学大会, 東京, 7.9, 2008
10. 丸岡貴司¹, 小泊郁子¹, 和田恵津子^{1,2}, 和田圭司¹ (1 国立精神・神経センター神経研究所, 2CREST/JST): 母体環境エンリッチメントによるマウス胎仔脳発達変化の網羅的解析. 独立行政法人科学技術振興機構(JST)戦略的創造研究推進事業(CREST)研究領域「脳の機能発達と学習メカニズムの解明」第 5 回領域内研究報告会, 大阪, 3. 5, 2008
11. 小泊郁子¹, 丸岡貴司¹, 山内玲奈¹, 和田恵津子^{1,2}, 和田圭司¹ (1 国立精神・神経センター神経研究所, 2CREST/JST): 母体由来グレリンの胎児脳発達に及ぼす影響. 独立行政法人科学技術振興機構(JST)戦略的創造研究推進事業(CREST)研究領域「脳の機能発達と学習メカニズムの解明」第 5 回領域内研究報告会, 大阪, 3. 5, 2008
12. 西本美香^{1,2}, 古田晶子², 青木俊介², 工藤佳久¹, 宮川博義¹, 和田圭司² (1 東京薬科大学大学院分子生命科学科, 2 国立精神・神経センター神経研究所): PACAP/PAC1 システムによる神経系前駆細胞の増殖, 並びにアストロサイト新生への機能的制御. 独立行政法人科学技術振興機構(JST)戦略的創造研究推進事業(CREST)研究領域「脳の機能発達と学習メカニズムの解明」第 5 回領域内研究報告会, 大阪, 3. 5, 2008
13. Nishimoto M^{1,2}, Furuta A², Wada K² (1 東京薬科大院・生命・脳神経, 2 国立精神・神経センター): The functional regulatory mechanism in reactive astrocytes via VIP/VPAC2 system. Neuro2007. Yokohama, 9. 12, 2007.
14. 天野大樹^{1,2}, 和田恵津子¹, 野田百美², 和田圭司¹, 関口正幸¹ (1 国立精神・神経センター神経研究所, 2 九州大学大学院薬学研究科): 1 型ニューロテンシン受容体ノックアウトマウス扁桃体におけるドーパミン機能の亢進. 独立行政法人科学技術振興機構(JST)戦略的創造研究推進事業(CREST)研究領域「脳の機能発達と学習メカニズムの解明」第4回領域内研究報告会. 東京, 3.6, 2007.
15. 圖子田康¹, 和田圭司¹, 関口正幸¹ (1 国立精神・神経センター神経研究所): 前頭前野 AMPA 受容体増強による恐怖記憶消去の促進. 独立行政法人科学技術振興機構(JST)戦略的創造研究推進事業(CREST)研究領域「脳の機能発達と学習メカニズムの解明」第4回領域内研究報告会. 東京, 3.6, 2007.
16. 山内玲奈¹, 和田恵津子¹, 山田大輔¹, 吉川正明², 和田圭司¹ (1 国立精神・神経センター神経研究所, 2 京都大学大学院農学研究科): 牛乳タンパク質由来ペプチド β -lactotensin のストレス及び恐怖記憶への影響. 独立行政法人科学技術振興機構(JST)戦略的創造研究推進事業(CREST)研究領域「脳の機能発達と学習メカニズムの解明」第4回領域内研究報告会. 東京, 3.6, 2007.
17. Aoki S¹, Sun Y¹, Nishikawa K¹, Yuda H¹, Osaka H¹, Wang Y¹, Fukazawa N¹, Wada K¹ (1 Dept. of Degenerative Neurological Diseases, Natl. Inst. of Neurosci., NCNP, Tokyo Japan): Solo/trio8, A membrane-associated short isoform of trio modulates endosome dynamics and neurite elongation. The American Society for Cell Biology 46th Annual Meeting. San Diego, California, U.S, 12.10, 2006.

18. Sekiguchi M^{1,4}, Zushida K¹, Sahara Y², Yuasa S³, Wada K^{1,4} (1Department of Degenerative Neurological Diseases, 2Department of Cell Biology, and 3Department of Ultrastructure Research, National Institute of Neuroscience, National Center of Neurology and Psychiatry, 4CREST, Japan Science and Technology Agency) : Impaired amygdala gabaergic synapses and enhanced unconditioned fear in dystrophin-deficient mice. The GABAergic System, Cold Spring Harbor Laboratory Meeting, New York, U.S, 12.8, 2006.
19. Amano T^{1,2,3}, Wada E^{1,3}, Yamada D^{1,3}, Noda M², Wada K^{1,3}, Sekiguchi M^{1,3} (1NCNP, Nat. Inst. Neuroscience, 2Kyushu Univ. Sch. Phar., 3JST): Facilitated conditioned fear response and the amygdala long-term potentiation (LTP) in neurotensin receptor type-1 (NTR1) knockout (KO) mice. Society for Neuroscience 36th Annual Meeting. Atlanta, Georgia, U.S, 10.17, 2006.
20. Zushida K¹, Wada K¹, Sekiguchi M¹ (1NCNP, Natl Inst Neuroscience): A potentiator of AMPA receptors, PEPA, accelerates the extinction of fear memory to contextual cues in mice. Society for Neuroscience 36th Annual Meeting. Atlanta, Georgia, U.S.A, 10.16, 2006
21. 圖子田康¹, 和田圭司¹, 関口正幸¹ (1国立精神・神経センター神経研究所) :A potentiator of AMPA receptors. PEPA, accelerates the extinction of fear memory in mice. 第49回日本神経化学学会大会, 愛知, 9.16, 2006.
22. 天野大樹^{1,2},和田恵津子¹,野田百美²,和田圭司¹,関口正幸¹ (1国立精神・神経センター神経研究所、2九州大学大学院薬学研究科) :1型ニューロテンシン受容体欠損は扁桃体外側基底核のシナプス長期増強を促進する. Deficient of neurotensin receptor type-1 (NTR1) facilitates LTP in the basolateral amygdale. 第29回日本神経科学学会大会, 京都, 7.19, 2006.
23. 櫻井省花子¹, 圖子田康¹, 関口正幸¹, 和田圭司¹ (1国立精神・神経センター神経研究所) :Ubiquitin C-terminal hydrolase (UCH)-L1 欠損 gad マウスの行動とシナプス可塑性の異常.Alteration of behavior and impairment of synaptic plasticity in Ubiquitin C-terminal hydrolase (UCH)-L1-deficient gad mice. 第29回日本神経科学学会大会, 京都, 7.19, 2006.
24. Yamauchi R^{1,3,4}, Wada E^{1,4}, Yamada D^{1,4}, Santo-Yamada Y², Delawary M⁵, Nakazawa T⁵, Yamamoto T⁵, Goto Y², Wada K^{1,4} (1Dept. of Degenerative Neurological Diseases, Natl. Inst. of Neurosci., NCNP, Tokyo Japan, 2Dept. of Mental Retardation and Birth Defect Research, Natl. Inst. of Neurosci., NCNP, Tokyo Japan, 3JSPS, Tokyo, Japan, 4CREST, JST, Saitama, Japan, 5Div. of Oncology, Dept. of Cancer Biol., Inst. of Med. Sci., Univ. of Tokyo, Tokyo, Japan): Neurotensin type 2 receptor (NTR2) deficient mice show the impairment of memory construction. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress, Kyoto, Japan, 6.20, 2006.
25. 大橋洋輝¹, 君和田友美¹, 西川香里¹, 青木俊介¹, 和田圭司¹ (国立精神神経センター神経研究所) :成熟個体脳由来の神経系前駆細胞における G 蛋白質共役型受容体の発現解析. 第28回日本分子生物学会年会、福岡、12.10, 2005
26. Zushida, K¹, Wada, K¹, Sekiguchi, M¹ (1国立精神神経センター神経研究所): A potentiator of AMPA receptors, PEPA, accelerates the decay of conditioned fear responses in mice. 35th Annual Meeting of Society for Neuroscience, Washington, DC, USA, 11.15, 2005
27. Yamauchi, R¹, Wada, E¹, Yamada, D¹, Zushida, K¹, Sekiguchi, M¹, Yoshikawa, M², Wada, K¹ (1国立精神神経センター神経研究所、2京都大学大学院農学研究科、) : Effect of beta-lactotensin on acute stress and memory. 第78回日本生化学会大会、神戸、10.21, 2005

(京都大学グループ)

28. 宮本知京¹、吉田真理子¹、吉川正明²、大日向耕作¹ (¹京都大学大学院農学研究科食品生物科学専攻、²大阪大学大学院 工学研究科 FRC): 脳内プロスタグランジン D₂ を介した補体 C5a の抗不安機構. 独立行政法人科学技術振興機構(JST)戦略的創造 研究推進事業(CREST)研究領域「脳の機能発達と学習メカニズムの解明」第6回領域内報告会、大阪、3. 1, 2010
29. 鈴木千尋¹、小田亜矢子¹、侯 依静¹、吉川正明²、和田恵津子³、和田 圭司³、大日向耕作¹ (¹京都大学大学院農学研究科、²大阪大学大学院工学研究科、³国立精神・神経センター神経研究所): 牛乳β-lactotensin はニューロテンシン NT₂ 受容体を介して抗不安作用を示す. 独立行政法人科学技術振興機構(JST)戦略的創造 研究推進事業(CREST)研究領域「脳の機能発達と学習メカニズムの解明」第7回領域内報告会、大阪、3. 1, 2010
30. 趙 慧¹、太田茂之²、山田優子²、大日向耕作²、吉川正明^{1,3} (¹生産開発科学研究所、²京都大学大学院農学研究科、³大阪大学大学院工学研究科): ラクトフェリンから派生するアンジオテンシン変換酵素阻害ペプチドの血圧降下および中枢作用. 独立行政法人科学技術振興機構(JST)戦略的創造 研究推進事業(CREST)研究領域「脳の機能発達と学習メカニズムの解明」第7回領域内報告会、大阪、3. 1, 2010
31. 大日向耕作¹、吉田真理子¹、吉川正明² (¹京大院農・食品生物科学、²阪大院工・FRC): ヒトラクトフェリン由来の補体 C5a アゴニストペプチド FKDCHLAR の抗不安作用. 日本農芸化学会. 福岡, 3.29, 2009.
32. 吉田真理子¹、吉川正明²、大日向耕作¹ (¹京都大学大学院農学研究科、²大阪大学大学院工学研究科): ヒトラクトフェリン由来の生理活性ペプチド lactomedin1 による抗不安作用. 独立行政法人科学技術振興機構(JST)戦略的創造 研究推進事業(CREST)研究領域「脳の機能発達と学習メカニズムの解明」第6回領域内報告会、大阪、3. 11, 2009
33. 吉川正明¹、大日向耕作² (¹大阪大学大学院工学研究科、²京都大学大学院農学研究科): ヒトラクトフェリンから派生する新しい回腸収縮ペプチド lactomedin1 および 2. 独立行政法人科学技術振興機構(JST)戦略的創造 研究推進事業(CREST)研究領域「脳の機能発達と学習メカニズムの解明」第6回領域内報告会、大阪、3. 11, 2009
34. 趙 慧¹、大日向耕作¹、吉川正明² (¹京大院農・食品生物科学、²阪大院工・FRC): プロスタグランジン D₂ の抗不安作用. 第31回日本分子生物学会第81回日本生化学会合同大会、神戸、12.10, 2008
35. 吉川正明¹、森 孝明²、南 利子²、森口盛雄²、大日向耕作² (¹阪大院工・FRC、²京大院農・食品生物科学): ヒトラクトフェリン由来の回腸収縮ペプチド lactomedin 1 および 2. 第3回ラクトフェリンフォーラム、東京、12.1, 2008
36. 大日向耕作¹、井上なつみ¹、吉川正明¹ (¹京都大学大学院農学研究科): 脳内モノアミン放出に及ぼす β-lactotensin の影響. 独立行政法人科学技術振興機構(JST)戦略的創造研究推進事業(CREST)研究領域「脳の機能発達と学習メカニズムの解明」第5回領域内研究報告会、大阪、3. 5, 2008
37. 大日向耕作、井上なつみ、平田創、吉川正明(京都大学大学院農学研究科): 牛乳由来 β-lactotensin の脳内における dopamine 放出促進作用. 独立行政法人科学技術振興機構

(JST)戦略的創造研究推進事業(CREST)研究領域「脳の機能発達と学習メカニズムの解明」
第4回領域内研究報告会. 東京, 3.6, 2007.

(4)知財出願

①国内出願 (1 件)

1. 生理活性ペプチドを含む医薬組成物、大日向耕作、鈴木千尋、JST、2010.05.26、特願
2010-120306

②海外出願 (0 件)

上記国内出願特許を JST の支援により海外出願の手続き中

③その他の知的財産権 (0 件)

(5)受賞・報道等

①受賞

(京都大学グループ)

1. 安藤百福賞 「食品由来ペプチドの機能解析を基盤とする有効利用と新しい生体調節機構の
解明」 吉川正明

②マスコミ(新聞報道)

(神経研究所グループ)

2. 和田圭司 ¹(¹ 国立精神・神経センター神経研究所): 痩せすぎても胎児に脳に影響. 日刊スポ
ーツ新聞. 10. 15, 2009
3. 和田圭司 ¹(¹ 国立精神・神経センター神経研究所): 脳の重要なタンパク減らす高脂肪食. 日刊
スポーツ新聞. 10. 14, 2009
4. 和田圭司 ¹(¹ 国立精神・神経センター神経研究所): メタボ母胎児に影響も. 日刊スポーツ新聞.
10. 12, 2009
5. 和田圭司 ¹(¹ 国立精神・神経センター神経研究所): 妊婦のストレス「グレリン」介し胎児に伝達.
日刊工業新聞. 7. 24, 2008
6. 和田圭司(国立精神・神経センター神経研究所): 遺伝と環境の影響探る一謎の多い赤ちゃん
の脳. 日本経済新聞. 10.23, 2006.

③その他

プレスリリース

(神経研究所グループ)

1. 第31回日本神経科学大会にて「母体由来グレリンの胎仔脳発達に及ぼす影響」
小泊郁子、丸岡貴司、山内玲奈、和田恵津子、和田圭司
(国立精神・神経センター神経研究所 疾病研究第4部)
2. 和田圭司¹(¹ 国立精神・神経センター神経研究所): これからの脳科学は幅広く考えよう 脳とこ
ころの健康: 赤ちゃんから大人まで. ニュースレター Brain & Mind, Vol.10.9, 2009

3. 研究領域「脳の機能発達と学習メカニズムの解明」ホームページのプレス発表欄に研究成果が掲載された。

(6)成果展開事例

①実用化に向けての展開

なし

②社会還元的な展開活動

- ・本研究成果に興味を覚えた団体3件から講演依頼を受け、社会人教育、幼児教育の関係者、男女共同参画関係者それぞれ 100 名と交流した。
- ・本研究成果について外国出版社より単行本“Reproductive and Developmental Toxicology”の共同執筆を依頼された。
- ・本研究成果をインターネット(URL; <http://www.ncnp.go.jp/nin/guide/r4/index.html>)で公開し、一般に情報提供している。

§ 6 研究期間中の主なワークショップ、シンポジウム、アウトリーチ等の活動

年月日	名称	場所	参加人数	概要
2006.2.27	浜松医科大学セミナー	浜松	30	母子間バイオコミュニケーション研究の紹介
2006.12.9	「脳学習」第2回公開シンポジウム	東京	800	本研究の成果について一般に紹介
2007.3.17	人間総合科学大学生涯学習特講	埼玉	120	本研究の成果について社会人大学院生等に紹介
2007.5.19	国立精神・神経センター世界脳週間公開講演	東京	200	本研究の成果について一般に紹介
2008.10.8	京都府立医科大学学術セミナー	京都	30	母子間バイオコミュニケーション研究の紹介
2008.11.29	「脳学習」第4回公開シンポジウム	東京	800	本研究の成果について一般に紹介
2009.6.23	日本神経化学会大会シンポジウム	伊香保	50	母子間バイオコミュニケーション研究の紹介
2009.10.31	日本学術会議分科会合同市民公開シンポジウム	東京	300	本研究の成果について一般に紹介
2009.11.28	「脳学習」第5回公開シンポジウム	東京	800	本研究の成果について一般に紹介
2010.9.4	Neuro2010 シンポジウム	神戸	120	母子間バイオコミュニケーション研究の紹介
2010.9.29	国立精神・神経医療研究センター国際セミナー	東京	35	スイス ETH フェルドン教授との研究交流

2010.10.30	「脳学習」第 6 回公開シンポジウム	東京	800	本研究の成果について一般に紹介
------------	--------------------	----	-----	-----------------

§ 7 結び

まず始めに領域統括の津本先生、並びに領域アドバイザーの先生方に感謝の意を捧げたいと思います。研究代表者のそれまでの専門領域は神経変性疾患など病態神経科学であり、母子の領域は未経験に近い分野でありました。つまり、母子間バイオコミュニケーションの提案はそれまでの研究代表者の実績に基づいた提案というよりも、アイデアが先行した提案であったわけです。成就するかやってみないと分からないという提案であったわけですが、危険を顧みず採択いただきましたことに大変感謝をいたしております。採択後も、アイデアはあるけれども果たして実証できるであろうか？という大きな不安を持った中での船出でありましたが、幸いなことに京都大学名誉教授吉川正明先生、准教授の大日向耕作先生という大変心強い先生方に研究チームを組んでいただき、国立精神・神経医療研究センターチームだけではできない部分を余りあるくらいに補っていただきました。吉川先生、大日向先生の研究からは特許出願も果たされ、国際特許の出願も JST のご支援で実施される予定であるのは予想を上回った出来事でありました。また、国立精神・神経医療研究センターチームにつきましても、多数の優秀な共同研究者に恵まれ、雲をつかむような構想に対して、十分とはいえないまでも母子伝達物質の同定を始め我々が目的としたことがほぼ達成できましたのはこの上もない喜びです。今年度で CREST のサポートは終了いたしますが、新しく切り開いた研究分野でもありますので、研究代表者のライフワークとするようなつもりで今後も取り組んでいきたいと考えております。時あたかも、脳科学につきましても、脳と環境ということが大きなテーマとなりつつあります。私たちの研究もこのような流れを先取りしたわけではありませんが、時流としてこの中に入ることができたのも幸運なことでした。

また、本研究を通しましてこれまで知り得なかった多くの方々と交流が深まりましたのも大変良かった出来事であります。研究者世界での交流が新たに始まったのもそうですが、研究者の枠を超えて、幼稚園、保育園関係者の方々や保育士育成を行われておられます学校関係者の方が、あるいは市民グループの方々にお招きいただき、いろいろなお話を伺えたのも今後の研究を考える上で大いに参考になりました。本領域では毎年公開シンポジウムが盛況のうちに開催されましたが、このような対外的活動のおかげで研究分野以外の方々との交流が深まりました。この点につきましては改めまして領域事務所の方々を始め関係者の皆様にお礼を申し上げます。私たちの研究はいわゆる子育てに直結するテーマを扱っておりましたので、皆様方の関心は大変高いものがありました。より良い子育てを求めて古より様々な智慧が絞られてきていますし、情報交換も盛んです。なにがいったい良い子育てであるのだろうかという問いにつきまして、科学の目から「答え」を見つけ出してほしいという要望や、現に発達障害のお子様を持っておられるご家族から切なるご要望や多数のご質問をいただきました。子育ては様々な要因を考慮しないといけない複合事象で決して自然科学だけで語られるものではないと承知しておりますし、子育ては経験に基づくところが多く、再現性、実証性を重視する自然科学の対象にはなかなか得なかった歴史につきましても承知をいたしておりますが、少しずつでも物質的基盤を明らかにしていくことの姿勢が脳科学に携わらない方々におきましても交流を通してご理解いただけたのではないかと考えております。

科学技術振興機構への要望といたしましては、やはり明日の日本を担う人材の育成を念頭に置き、様々な施策を行っていただきたいと考えております。日本は既に少子高齢社会であり、人口減少社会でもあります。目先のことでなく、50年、100年先のあるべき姿を考えて今から科学技術の施策を立案推進していただきたいと思います。後進が育たない分野には発展はありません。裾野を広くして各科学技術分野を醸成することはもちろんですが、生み出されたものがやがて良い文化形成にも貢献するそういう社会作りにも貢献していただきたいと思います。

CREST は研究チームの運営といたしましては大変運営しやすい事業形態でありました。ラ

イフサイエンスの分野は一人に莫大な研究費の投資を行うよりは、ほどほどの額を多数の方に使っていただいた方が費用対効果の点ではよりよいのではないかと個人的には考えております。なるべく多くの方が CREST のような事業形態の恩恵にあずかるようになればよいと願っております。

