

「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) について、吉川グループとの共同研究により、FABP7 遺伝子が海馬ニューロン新生に必須であること、および統合失調症発症に関わる可能性を明らかにした (Watanabe et al., 2007)。さらに、FABP7 と類縁の FABP5 に関しても、免疫組織化学的データおよび FABP5 ノックアウトマウスを用いた解析により、ニューロン新生に関わることを見出した (投稿準備中)。脂肪酸結合タンパク質の重要性を鑑み、ドコサヘキサエン酸 (DHA) およびアラキドン酸 (ARA) をラットに投与することにより、ARA に関して約 30% のニューロン新生向上効果があることが認められた (昨年度特許出願)。さらに、ephrinA5 の KO マウスを用いた研究から、ニューロン新生と脳血流の関係について明らかにしつつある。

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与す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、FABP7 と同じ分子ファミリーに属する FABP5 の神経新生への関与についての

解析に着手した。**FABP5** は **FABP7** 同様に生後一成体脳の海馬歯状回で発現し、また多価不飽和脂肪酸と結合することが知られている。そこで **FABP5** の発現について生後4週齢のマウス海馬を用いて詳細な解析を行ったところ、**FABP7** 同様に海馬歯状回顆粒細胞下層の神経幹細胞・神経前駆細胞で発現が認められた。次に **FABP5** 陽性細胞を各種神経分化マーカーと共染色し、その分化段階を確認した。**FABP5** 陽性細胞のうち、神経幹細胞マーカーである **GFAP** を共発現しているものは **32%**、神経前駆細胞マーカーである **DCX** を共発現しているものは **54%**、そして神経細胞マーカーである **NeuN** を共発現しているものは **15%** 存在していた。前年度の報告書で述べたとおり、**FABP7** 陽性細胞はより未分化である神経幹細胞・神経前駆細胞であるのに対し、**FABP5** 陽性細胞は分化段階が分化の方向にシフトし主に神経前駆細胞の状態であることが伺える。これらのことから、生後海馬歯状回に存在する神経幹細胞・神経前駆細胞は、その分化段階にあわせて **FABP** の発現を **FABP7** から **FABP5** へと切り替えているのではないかと推測される。また *Fabp5* 遺伝子のノックアウトマウスでは *Fabp7* ノックアウトマウス同様に神経幹細胞・神経前駆細胞の増殖能が低下していた。現在、*Fabp5* ノックアウトマウスの詳細な解析を行っているところである。

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た (Watanabe et al., 2007)。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という報告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細胞増殖阻害剤 **MAM** を投与することにより一過性にニューロン新生を低下させ、高頻度に **PPI** の低下を誘導しうる実験系を確立できた。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。

上記のように、脂肪酸結合タンパク質がニューロン新生に深く関わることから、我々は高度不飽和脂肪酸 (**PUFA**) を高濃度に含有した餌をラットやマウスに投与することにより、ニューロン新生を向上させることができるかどうかについて検討した。高度不飽和脂肪酸の中で、我々は脳の中ではほぼ **1:1** の割合で存在するドコサヘキサエン酸 (**DHA**) およびアラキドン酸 (**ARA**) に着目し、まずラットにおいて生後2日目から母獣に **DHA** および **ARA** 含有餌を投与することにより、母乳を介して脳の発達期のラットに **PUFA** を与えて、その効果について解析した。この投与法により、脳内の **DHA** および **ARA** 濃度がそれぞれ増加したことから、**DHA** や **ARA** は母乳を通じて仔ラットに到達しうることを確かめた上で、神経幹細胞の増殖について解析したところ、**ARA** 投与群において有意な増殖増加を認めた。

ARA 投与によって神経幹細胞および早期前駆細胞のマーカーである GFAP および後期神経前駆細胞のマーカーである PSA-NCAM のどちらも発現量が増加したことから、ARA は神経幹細胞の増殖を亢進することが示唆された（投稿準備中）。

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）

井ノ口 馨（三菱化学生命科学研究所）

湯浅 茂樹（国立精神神経センター）

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

(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）

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）

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)

・ Sato, K. Kuroiwa A, Takahashi M, Koizumi Y and Tamura K. Specification of cell fate along the proximal-distal axis in the developing chick limb bud.

Development **134**(7), 1397-1406, 2007.

・ Tamai, H. Shinohara, H. Miyata, T. Saito, K. Nishizawa, Y. Nomura T. and Osumi, N.

Pax6 transcription factor is required for the interkinetic nuclear movement of neuroepithelial cells. *Genes Cells*. **12**(9), 983-996, 2007.

- Nomura, T. Haba, H. and Osumi, N. Role of a transcription factor Pax6 in the developing vertebrate olfactory system. *Dev. Growth Differ.* **49(9)**, 683–690, 2007.
- Nomura, T., Takahashi, M. Hara, Y. and Osumi, N. Patterns of neurogenesis and amplitude of Reelin expression are essential for making a mammalian-type cortex. *PLoS ONE* **3(1)**, e1454, 2008.
- Shoji-Kasai, Y., Ikegami, S., Ageta, H., Hasegawa, Y., Hirai, K., Tsuchida, K., Sugino, H., Ozawa, F. and Inokuchi, K. Activin increases the number of synaptic contacts and the length of dendritic spine necks by modulating spinal actin dynamics. *J. Cell Sci.*, **120**, 3830–3837, 2007.
- Ohkawa, N., Fujitani, K., Tokunaga, E., Furuya, S. and Inokuchi, K. The microtubule destabilizer stathmin mediates the development of dendritic arbors in neuronal cells. *J. Cell Sci.*, **120**, 1447–1456, 2007.
- Ohkawa, N., Hashimoto, K., Hino, T., Migishima, R., Yokoyama, M., Kano, M. and Inokuchi, K. Motor discoordination of transgenic mice overexpressing a microtubule destabilizer, stathmin, specifically in Purkinje cells. *Neurosci. Res.*, **59**, 93–100, 2007.
- Okubo-Suzuki, R., Okada, D., Sekiguchi, M. and Inokuchi, K. Synaptopodin Maintains the Neural Activity-dependent Enlargement of Dendritic Spines in Hippocampal Neurons. *Mol. Cell. Neurosci.*, in press
- 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.
- Arai R, Ito K, Ohnishi T, Ohba H, Akasaka R, Bessho Y, Hanawa-Suetsugu K, Yoshikawa T, Shirouzu M, Yokoyama S: Crystal structure of human myo-inositol monophosphatase 2 (IMPA2), the product of the putative susceptibility gene for bipolar disorder, schizophrenia and febrile seizures. *PROTEINS: Structure, Function, and Bioinformatics* **67**, 732–742, 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, Arga J, Yoshio 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, 2007.
- Ohnishi T, Yamada T, 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. *Neuropsychopharmacology* **32**, 1727–1737, 2007.
- Watanabe A, Toyota T, Owada Y, Hayashi T, Yoshimi Iwayama Y, Matsumata M, Ishitsuka Y, Nakaya A, Maekawa M, Ohnishi T, Arai R, Sakurai K, Yamada K, Kondo H, Hashimoto K, Osumi N, Yoshikawa T: Fabp7 maps to a quantitative trait locus for a schizophrenia endophenotype. *PLoS Biology* **5**, e297, 2007. (selected in Synopsis)
- Nakajima M, Yamada K, Hattori E, Iwayama Y, Toyota T, Iwata Y, Tsuchiya KJ, Sugihara G, Hashimoto K, Watanabe H, Iyo M, Kikuchi M, Okazaki Y, Yoshikawa T: Genetic examination of the PLXNA2 gene in Japanese and Chinese schizophrenics. *Schizophrenia Res* **99**, 359–364, 2008.
- Nishiyama, T., Nakamura, T., Obara, K., Inoue, H., Mishima, K., Matsumoto, N., Matsui, M., Manabe, T., Mikoshiba, K. and Saito, I. Upregulated PAR-2-mediated salivary secretion in mice deficient in muscarinic acetylcholine receptor subtypes. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **320**, 516–524, 2007.
- Narushima, M., Uchigashima, M., Fukaya, M., Matsui, M., Manabe, T., Hashimoto, K., Watanabe, M. and 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. and 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, K. J., Manabe, T. and 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. and Manabe, T. The neuropeptide nociceptin is a synaptically released endogenous inhibitor of hippocampal long-term potentiation. *J. Neurosci.* **27**, 4850–4858, 2007.
- Kina, S.-i., Tezuka, T., Kusakawa, S., Kishimoto, Y., Kakizawa, S., Hashimoto, K., Ohsugi,

M., Kiyama, Y., Horai, Sudo, K., Kakuta, S., Iwakura, Y., Iino, M., Kano, M., Manabe, T. and Yamamoto, T. Involvement of protein-tyrosine phosphatase PTPMEG in motor learning and cerebellar long-term depression. *Eur. J. Neurosci.* **26**, 2269–2278, 2007.

(2) 特許出願

平成 19 年度 国内特許出願件数:0 件(CREST 研究期間累積件数:2 件)