

課題番号	LS081
------	-------

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)  
実施状況報告書(平成24年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	精神疾患の成因に関わる遺伝子×環境相互作用ダイナミクスの解析系の構築
研究機関・ 部局・職名	大阪大学・大学院薬学研究科・教授
氏名	橋本 均

1. 当該年度の研究目的

統合失調症やうつ病などの心の病気は、非常に多くの病気に関わる遺伝因子と、ストレスなどの環境因子が複雑に絡み合って発症する可能性が考えられているが、詳細な分子メカニズムはまだほとんど分かっていない。そこでこの研究課題では、これらの病気と似た症状を示す遺伝子改変マウスなどを用いて、心の病気が起こるときの脳内の変化を調べ、これまで不明であった病気のメカニズムの一端を解明することを目的としている。このために、様々な脳の機能調節や病気への関与が推定されている非翻訳 RNA (miRNA 等)の脳内の変化を、病気のモデル動物を用いて詳しく解析する。本年度は、以下の項目の推進を目的として研究を実施した。

- ・ 精神疾患病態モデル動物の特性解析およびその分子基盤となる miRNA の同定と機能解析
- ・ 細胞種特異的マーカートランスジェニック動物の作製と全脳定量的形態計測システムの作製

2. 研究の実施状況

- ・ 精神疾患病態モデル動物の特性解析およびその分子基盤となる miRNA の同定と機能解析  
miRNA 等の RNA 分子種の特異的検出に優れた架橋型 DNA を用いたハイブリダイゼーション検出系によって、脳細胞での発現レベルの異なる miRNA 分子種の *in situ* イメージングを試み、限局した局在を示す興味深い miRNA などを見出した。  
一方、精神機能の調節に重要な働きをもつセロトニン神経細胞を、多能性幹細胞から *in vitro* で分化させ FACS 装置を用いて純化したのち、次世代シーケンサーを用いて miRNA のプロファイリングを行った結果、セロトニン神経細胞に特異的に発現する miRNA を同定することができた。また、上の *in situ* 検出系によって、この miRNA は、セロトニン神経細胞が存在する脳の縫線核を含む領域に特異的に局在することが明らかになった。さらに、この miRNA は、セロトニン神経の分化・成熟を促進する作用を示すことも分かった。  
疾患モデル動物からの解析においては、精神疾患のストレス脆弱性モデルを導入し、行動学的・行動薬理的解析を実施するとともに、その脳内での遺伝子や miRNA の発現変化について検討中である。
- ・ 細胞種特異的マーカートランスジェニック動物の作製と全脳定量的形態計測システムの作製  
複数の脳細胞(ニューロンとグリア細胞)を同時検出できるマウスの作製に取り組み、融合遺伝子の構築と *in vitro* での機能を確認したのち、数種のトランスジェニックマウスのラインを発生させ、mRNA レベルの

様式19 別紙1

脳細胞での発現も確認できたが、蛍光蛋白質からの蛍光を観察することはできなかった。そのため、現在、融合遺伝子のコンストラクションの改変(蛍光蛋白質、細胞内局在シグナル、プロモーター配列の変更等)を進めている。

全脳定量的形態計測システムの構築のため、順次切断法を用い、実用的な時間内で全脳イメージングを実施するため顕微鏡システムを構築中である。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 8 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 7 件</p> <p>Ago Y, Hiramatsu N, Ishihama T, Hazama K, Hayata-Takano A, Shibasaki Y, Shintani N, Hashimoto H, Kawasaki T, Onoe H, Chaki S, Nakazato A, Baba A, Takuma K, Matsuda T. The selective metabotropic glutamate 2/3 receptor agonist MGS0028 reverses psychomotor abnormalities and recognition memory deficits in mice lacking the pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide. <i>Behav Pharmacol.</i> 2013;24(1):74-7.</p> <p>Hattori S, Takao K, Tanda K, Toyama K, Shintani N, Baba A, Hashimoto H, Miyakawa T. Comprehensive behavioral analysis of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) knockout mice. <i>Front Behav Neurosci.</i> 2012;6:58.</p> <p>Tajiri M, Hayata-Takano A, Seiriki K, Ogata K, Hazama K, Shintani N, Baba A, Hashimoto H. Serotonin 5-HT<sub>7</sub> receptor blockade reverses behavioral abnormalities in PACAP-deficient mice and receptor activation promotes neurite extension in primary embryonic hippocampal neurons: therapeutic implications for psychiatric disorders. <i>J Mol Neurosci.</i> 2012;48(3):473-81.</p> <p>Reglodi D, Kiss P, Szabadfi K, Atlasz T, Gabriel R, Horvath G, Szakaly P, Sandor B, Lubics A, Laszlo E, Farkas J, Matkovits A, Brubel R, Hashimoto H, Ferencz A, Vincze A, Helyes Z, Welke L, Lakatos A, Tamas A. PACAP is an endogenous protective factor-insights from PACAP-deficient mice. <i>J Mol Neurosci.</i> 2012;48(3):482-92.</p> <p>Sakurai Y, Inoue H, Shintani N, Arimori A, Hamagami K, Hayata-Takano A, Baba A, Hashimoto H. Compensatory recovery of blood glucose levels in KKA(y) mice fed a high-fat diet: insulin-sparing effects of PACAP overexpression in <math>\beta</math> cells. <i>J Mol Neurosci.</i> 2012;48(3):647-53.</p> <p>Shimada T, Takai Y, Shinohara K, Yamasaki A, Tominaga-Yoshino K, Ogura A, Toi A, Asano K, Shintani N, Hayata-Takano A, Baba A, Hashimoto H. A simplified method to generate serotonergic neurons from mouse embryonic stem and induced pluripotent stem cells. <i>J Neurochem.</i> 2012;122(1):81-93.</p> <p>Haba R, Shintani N, Onaka Y, Wang H, Takenaga R, Hayata A, Baba A, Hashimoto H. Lipopolysaccharide affects exploratory behaviors toward novel objects by impairing cognition and/or motivation in mice: Possible role of activation of the central amygdala. <i>Behav Brain Res.</i> 2012;228(2):423-31.</p> <p>(掲載済み一査読無し) 計 0 件</p> <p>(未掲載) 計 1 件</p> <p>Inoue H, Shintani N, Sakurai Y, Higashi S, Hayata-Takano A, Baba A, Hashimoto H. PACAP Inhibits <math>\beta</math>-cell Mass Expansion in a Mouse Model of Type II Diabetes: Persistent Suppressive Effects on Islet Density. <i>Front Endocrinol (Lausanne).</i> 2013;4:27. doi: 10.3389/fendo.2013.00027.</p>
<p>会議発表 計 12 件</p>	<p>専門家向け 計 12 件</p> <p>狭間 啓佑, 笠井 淳司, 勢力 薫, 岡田 遼, 小川 純明, 早田 敦子, 新谷 紀人, 馬場 明道, 橋本 均. PACAP 欠損マウスにおける慢性的な社会的敗北ストレス誘発うつ様症状の消失. 東京. 2013 年 3 月 27~30 日. 日本薬学会第 133 年会</p> <p>叶 拓也, 新谷 紀人, 尾中 勇祐, 武永 理佐, 羽場 亮太, 早田 敦子, 平井 博之, 永田 欽也, 中村 正孝, 馬場 明道, 橋本 均. プロスタノイド受容体 CRTH2 を欠損したマウスでは MK-801 で誘発される認知機能障害が消失する. 福岡市. 2013 年 3 月 21~23 日. 第 86 回日本薬理学会年会</p>

様式19 別紙1

	<p>橋本 均, 新谷 紀人, 馬場 明道. プロスタグランジン D2 の II 型受容体 CRTH2 の高次脳機能制御における役割. 名古屋市. 2012 年 12 月 22~23. 第 3 回脳表現型の分子メカニズム研究会</p> <p>早田 敦子, 円丁 直樹, 森口 啓太, 藤野 智大, 新谷 紀人, 橋本 均. Halo タグシステムを用いた PACAP シグナルによる受容体動態の解析. 福岡市. 2012 年 12 月 14~16 日. 第 85 回日本生化学会大会</p> <p>橋本 均, 早田 敦子, 新谷 紀人. 精神疾患における PACAP シグナル経路. 福岡市. 2012 年 12 月 14~16 日. 第 85 回日本生化学会大会</p> <p>浅野 宏治, 山崎 淳史, 問 暁裕, 栗田 麻希, 木本 早紀, 笠井 淳司, 新谷 紀人, 早田 敦子, 馬場 明道, 橋本 均. 次世代シーケンサーを用いたセロトニン神経特異的に発現変動する miRNA の同定. 大阪. 2012 年 11 月 16 日. 第 122 回日本薬理学会近畿部会</p> <p>円丁 直樹, 早田 敦子, 森口 啓太, 藤野 智大, 新谷 紀人, 橋本 均. PACAP によるセロトニン 2A 受容体の内部局在化の解析. 大阪. 2012 年 11 月 16 日. 第 122 回日本薬理学会近畿部会</p> <p>橋本 均. ヒトとマウスの遺伝子を介した表現型比較:PACAP 遺伝子と統合失調症. 名古屋市. 2012 年 9 月 18 日~21 日. 第 35 回日本神経科学大会</p> <p>尾中 勇祐, 新谷 紀人, 武永 理佐, 叶 拓也, 羽場 亮太, 平井 博之, 永田 欽也, 中村 正孝, 早田 敦子, 馬場 明道, 橋本 均. 情動障害モデルの行動異常におけるプロスタノイド受容体 CRTH2 の関与. 福岡市. 2012 年 9 月 15~16 日. 第 11 回次世代を担う若手ファーマバイオフォーラム 2012</p> <p>開 菜摘, 張 寧, 東 信太郎, 新谷 紀人, 片木 和彦, 井上 直紀, 早田 敦子, 馬場 明道, 橋本 均. HPGB のミトコンドリア融合阻害に関するアミノ酸残基の同定. 神戸市. 2012 年 9 月 1 日. 次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム 2012</p> <p>問 暁裕, 山崎 淳史, 浅野 宏治, 栗田 麻希, 新谷 紀人, 早田 敦子, 馬場 明道, 橋本 均. ES 細胞からのセロトニン神経分化における noggin の作用機構に関する研究. 徳島市. 2012 年 6 月 29 日. 第 121 回日本薬理学会近畿部会</p> <p>早田 敦子, 勢力 薫, 田尻 美奈子, 尾形 勝弥, 新谷 紀人, 馬場 明道, 橋本 均. Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) plays a critical role in mental function and neuronal morphology. Stockholm, Sweden. 2012 年 6 月 3 日. 28th CINP World Congress of Neuropsychopharmacology</p> <p>一般向け 計 0 件</p>
<p>図 書</p> <p>計 0 件</p>	
<p>産業財産権 出願・取得状 況</p> <p>計 0 件</p>	<p>(取得済み) 計 0 件</p> <p>(出願中) 計 0 件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>大阪大学・最先端・次世代研究開発支援プログラム <a href="http://www.osaka-u.ac.jp/ja/research/program_next">http://www.osaka-u.ac.jp/ja/research/program_next</a></p> <p>大阪大学大型教育研究プロジェクト支援室・最先端・次世代研究開発支援プログラム <a href="http://www.lserp.osaka-u.ac.jp/index_jisedai.html">http://www.lserp.osaka-u.ac.jp/index_jisedai.html</a></p>

様式19 別紙1

<p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>	<p>大阪大学・オープンキャンパス            実施日: 2012年8月17日(金)            場所: 大阪大学大学院薬学研究科            対象者: 高校生およびその父母をはじめとする学外の方            参加者数: 約50名            内容: 本研究課題の概要についてスライドを用いて説明するとともに、研究室において、実際の研究をデモンストレーションにより見学していただいた。</p>
<p>新聞・一般雑誌等掲載計0件</p>	
<p>その他</p>	

4. その他特記事項

## 実施状況報告書(平成24年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されず

## 1. 助成金の受領状況(累計) (単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	122,000,000	64,400,000	31,600,000	26,000,000	0
間接経費	36,600,000	19,320,000	9,480,000	7,800,000	0
合計	158,600,000	83,720,000	41,080,000	33,800,000	0

## 2. 当該年度の収支状況 (単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	34,942,360	31,600,000	0	66,542,360	51,104,989	15,437,371	0
間接経費	8,946,641	9,480,000	0	18,426,641	15,073,005	3,353,636	0
合計	43,889,001	41,080,000	0	84,969,001	66,177,994	18,791,007	0

## 3. 当該年度の執行額内訳 (単位:円)

	金額	備考
物品費	43,712,639	共焦点レーザー顕微鏡システム、実験試薬等
旅費	2,879,250	学会発表旅費(応用薬理シンポジウム)等
謝金・人件費等	0	
その他	4,513,100	DNAカスタム合成、シーケンス解析等
直接経費計	51,104,989	
間接経費計	15,073,005	
合計	66,177,994	

## 4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
ラット用ビームセンサー式 自発運動量測定装置	バイオリサーチセ ンター(株)製 LE8811A	4	549,360	2,197,440	2012/8/27	大阪大学
安全キャビネット 1385 Class II	Thermo 1355 パッケージ	1	1,050,000	1,050,000	2013/1/29	大阪大学
共焦点レーザー顕 微鏡システム	横河電機(株)製 CSU-W1-405- FN-Y1	1	24,538,500	24,538,500	2013/2/21	大阪大学