

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 25 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

<p>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おり、本年度は、以下の項目の達成を目指して研究を実施した。</p> <p>① マウス全脳の形態計測のための顕微鏡システムの完成 前年度までに構築した顕微鏡システムにより、マウス全脳の顕微画像を取得できるようになったが、精度や安定性において、実用的なレベルで稼働させることを目的に改良・変更を行う。</p> <p>② イメージデータからの3次元形態解析 全脳のイメージデータの情報は極めて大きく、通常的手法では取り扱えないため、本年度は、2次元情報から3次元形態情報を構築したのち、解析するシステムを順次構築する。</p> <p>③ miRNAの局在解析に基づく精神疾患の分子機構 これまでに、精神疾患の病態メカニズムと治療薬の標的として重要であると考えられる、セロトニン神経細胞に発現するmiRNAを同定しており、それらの詳細な局在等の解析を行う。</p> <p>④ 全脳形態計測システムを用いた脳神経機能研究の展開を目指した研究 疾患モデルを用いた正常な脳と障害がある脳の比較、蛍光蛋白標識マウスにおける解析を行うことにより、構築した解析システムの応用と実用化の研究を行う。</p>
--

2. 研究の実施状況

<p>① マウス全脳の形態計測のための顕微鏡システムの完成 前年度までに作製したシステムにより、実用的な時間内でのイメージングの目途が立っていたが、画像スティッチング後に問題となる周辺シグナルの低下、共焦点顕微法の性能限界でもあるZ軸方向の分解能の問題などが残っていたため、検出・光学系の改善や補正法の導入、画像解析パラメータの変更等により、実用的なレベルに改良することができた。</p> <p>② イメージデータからの3次元形態解析</p>

マウス全脳イメージの一次データは、数テラバイトと膨大であり、3次元構築機能がないことなどの理由で、通常のライフサイエンス領域で汎用される解析ソフトウェアでは処理できなかった。そこで、粒子形状解析による手法を応用して、3次元形態情報を再構築したのち、ポイントクラウドデータ処理によって全体形状を表示・計測・解析するとともに、直交座標データ化によって、データ量を約3桁低下させることも可能になり、3次元形態解析を実現することに初めて成功した。

③ miRNAの局在解析に基づく精神疾患の分子機構

マウスES細胞からの*in vitro*セロトニン神経分化細胞を用い、次世代シーケンシングによるプロファイリングによって同定した、miRNA数種の脳内局在を、*in situ* hybridizationと免疫組織化学の同時検出法を用いて詳細に解析した結果、セロトニン神経の細胞体が存在する縫線核領域に、特異的に局在するmiRNAが見いだされた。それらの中には、一部のセロトニン神経細胞に不均一に発現するものもあり、同細胞の異種性とmiRNAによる機能調節の可能性が示唆された。

④ 全脳形態計測システムを用いた脳神経機能研究の展開を目指した研究

蛍光蛋白の発現を指標に、脳細胞種特異的にイメージングするための遺伝子導入ベクターを作製し、3次元イメージングを実施した。一方、疾患モデルにおける病態脳を、正常脳と比較する検討においても、直交座標データに基づき、詳細に解析することが可能になった。

3. 研究発表等

雑誌論文	(掲載済み一査読有り) 計9件
計10件	<p>Haba R, Shintani N, Onaka Y, Kanoh T, Wang H, Takenaga R, Hayata A, Hirai H, Nagata K, Nakamura M, Kasai A, Hashimoto R, Nagayasu K, Nakazawa T, Hashimoto H, Baba A. Central CRTH2, a second prostaglandin D₂ receptor, mediates emotional impairment in the lipopolysaccharide and tumor-induced sickness behavior model. <i>J Neurosci</i>. 2014;34(7):2514-23.</p> <p>Hazama K, Hayata-Takano A, Uetsuki K, Kasai A, Encho N, Shintani N, Nagayasu K, Hashimoto R, Reglodi D, Miyakawa T, Nakazawa T, Baba A, Hashimoto H. Increased behavioral and neuronal responses to a hallucinogenic drug in PACAP heterozygous mutant mice. <i>PLoS One</i>. 2014;9(2):e89153.</p> <p>Nemeth A, Szabadfi K, Fulop B, Reglodi D, Kiss P, Farkas J, Szalontai B, Gabriel R, Hashimoto H, Tamas A. Examination of calcium-binding protein expression in the inner ear of wild-type, heterozygous and homozygous pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP)-knockout mice in kanamycin-induced ototoxicity. <i>Neurotox Res</i>. 2014;25(1):57-67.</p> <p>Ago Y, Yano K, Araki R, Hiramatsu N, Kita Y, Kawasaki T, Onoe H, Chaki S, Nakazato A, Hashimoto H, Baba A, Takuma K, Matsuda T. Metabotropic glutamate 2/3 receptor antagonists improve behavioral and prefrontal dopaminergic alterations in the chronic corticosterone-induced depression model in mice. <i>Neuropharmacology</i>. 2013;65:29-38.</p> <p>Botz B, Imreh A, Sándor K, Elekes K, Szolcsányi J, Reglodi D, Quinn JP, Stewart J, Zimmer A, Hashimoto H, Helyes Z. Role of pituitary adenylate-cyclase activating polypeptide and Tac1 gene derived tachykinins in sensory, motor and vascular functions under normal and neuropathic conditions. <i>Peptides</i>. 2013;43:105-12.</p> <p>Inoue H, Shintani N, Sakurai Y, Higashi S, Hayata-Takano A, Baba A, Hashimoto H. PACAP Inhibits β-cell Mass Expansion in a Mouse Model of Type II Diabetes: Persistent Suppressive Effects on Islet Density. <i>Front Endocrinol</i>. 2013;4:27.</p> <p>Tanida M, Hayata A, Shintani N, Yamamoto N, Kurata Y, Shibamoto T, Morgan DA, Rahmouni K, Hashimoto H. Central PACAP mediates the sympathetic effects of leptin in a tissue-specific manner. <i>Neuroscience</i>. 2013;238:297-304.</p>

様式19 別紙1

	<p>Tóth ZE, Heinzlmann A, Hashimoto H, Köves K. Distribution of secretin receptors in the rat central nervous system: an in situ hybridization study. <i>J Mol Neurosci.</i> 2013;50(1):172-8.</p> <p>Arata S, Nakamachi T, Onimaru H, Hashimoto H, Shioda S. Impaired response to hypoxia in the respiratory center is a major cause of neonatal death of the PACAP-knockout mouse. <i>Eur J Neurosci.</i> 2013;37(3):407-16.</p> <p>(掲載済み一査読無し) 計 0 件</p> <p>(未掲載) 計 1 件</p> <p>Maasz G, Pirger Zs, Reglodi D, Petrovics D, Schmidt J, Kiss P, Rivnyak A, Hashimoto H, Avar P, Jambor E, Tamas A, Gaszner B, Mark L. Comparative protein composition of the brains of PACAP deficient mice using mass spectrometry based proteomic analysis. <i>J Mol Neurosci.</i></p>
<p>会議発表</p> <p>計 23 件</p>	<p>専門家向け 計 23 件</p> <p>井上 直樹, 東 信太朗, 新谷 紀人, 開 菜摘, 田中 翔大, 笠井 淳司, 早田 敦子, 橋本 均, 馬場 明道. Mitochondrial inner-membrane fusion inhibitor (MIFI) stimulates CCCP-induced mitophagy. 熊本市. 2014 年 3 月 27~30 日. 第 134 年回日本薬学会</p> <p>橋本 均. シンポジウム(抗精神病薬の創製のためのトランスレーショナルナルの作製:脳イメージング研究と基礎薬理学の接点) 疾患動物モデルを用いた精神疾患の創薬標的探索. 仙台市. 2014 年 3 月 19~21 日. 第 87 回日本薬理学会年会</p> <p>狭間 啓介, 笠井 淳司, 小川 純明, 早田 敦子, 新谷 紀人, 馬場 明道, 橋本 均. Altered expression of PACAP in the mPFC in depression-like states induced by chronic social defeat stress. 仙台市. 2014 年 3 月 19~21 日. 第 87 回日本薬理学会年会</p> <p>橋本 均, 笠井 淳司, 勢力 薫, Schulz Wiebke, 橋本 岳. 精神疾患の発症に関わる遺伝子×環境相互作用ダイナミクスの解析系の構築. 東京. 2014 年 2 月 28 日. FIRST EXPO2014-日本発の科学技術を世界へ</p> <p>橋本 均, 橋本 亮太, 新谷 紀人, 尾中 勇祐, 平井 博之, 永田 欣也, 中村 正孝, 馬場 明道. Central CRTH2/GPR44, a second prostaglandin D2 receptor, mediates emotional impairment in the lipopolysaccharide and tumor-induced sickness behavior model. 米国 フロリダ州. 2013 年 12 月 8~12 日. 米国神経精神薬理学会</p> <p>橋本 均, 新谷 紀人, 早田 敦子, 笠井 淳司, 永安 一樹, 中澤 敬信. 精神疾患の中間表現型を目指した疾患動物モデルにおける定量的脳形態計測系の構築. 福岡市. 2013 年 11 月 16~17 日. 第 4 回脳表現型の分子メカニズム研究会</p> <p>山崎 淳史, 笠井 淳司, 栗田 麻希, 木本 早希, 早田 敦子, 新谷 紀人, 馬場 明道, 橋本 均. Role of TGF-β and BMP signaling in the trajectory of serotonergic differentiation from ES cells. 米国 カリフォルニア州. 2013 年 11 月 9~13 日. The 43rd annual meeting of the Society for Neuroscience (Neuroscience 2013)</p> <p>狭間 啓介, 笠井 淳司, 円丁 直樹, 早田 敦子, 新谷 紀人, 馬場 明道, 橋本 均. Vulnerability to a hallucinogenic drug in PACAP heterozygous mice is accompanied by altered neural response in the somatosensory cortex. 米国 カリフォルニア州. 2013 年 11 月 9~13 日. The 43rd annual meeting of the Society for Neuroscience (Neuroscience 2013)</p> <p>開 菜摘, 新谷 紀人, 中山 博之, 東 信太朗, 舎川 洗太, 藤尾 慈, 井上 直樹, 田中 翔大, 笠井 淳司, 早田 敦子, 橋本 均, 馬場 明道. 新規ミトコンドリア融合阻害因子 MIFI の心筋特異的過剰発現マウスを用いた生理・病態機能解析. 京都市. 2013 年 11 月 1 日. 第 124 回日本薬理学会近畿部会</p> <p>森口 啓太, 早田 敦子, 藤尾 慈, 円丁 直樹, 永安 一樹, 笠井 淳司, 新谷 紀人, 馬場 明道, 橋本 均. PACAP induces PKC-mediated serotonin $2A$ receptor internalization. 京都市. 2013 年 11 月 1 日. 第 124 回日本薬理学会近畿部会</p> <p>岡田 遼, 山崎 淳史, 笠井 淳司, 永安 一樹, 新谷 紀人, 早田 敦子, 橋本 均. In vitro セロトニン神経誘導モデルにおいてセロトニン神経選択的な発現増加を示す microRNA の in vivo 発現解析. 京都市. 2013 年 11</p>

	<p>月1日. 第124回日本薬理学会近畿部会</p> <p>橋本 均. シンポジウム(向精神薬領域におけるトランスレーショナル・リサーチの促進に向けて:NP/TMSCの試み) 入口戦略の構築:シーズの目利き役はどこに?. 宜野湾市. 2013年10月24~26日. 第23回日本臨床精神神経薬理学会・第43回日本神経精神薬理学会 合同年会</p> <p>橋本 均, 新谷 紀人, 早田 敦子, 笠井 淳司, 永安 一樹, 中澤 敬信. シンポジウム(動物モデルを用いた精神疾患の分子病態研究) 精神疾患モデルマウスを用いた発症脆弱性因子および創薬標的分子の探索. 宜野湾市. 2013年10月24~26日. 第23回日本臨床精神神経薬理学会・第43回日本神経精神薬理学会 合同年会</p> <p>木本 早希, 山崎 淳史, 笠井 淳司, 永安 一樹, 早田 敦子, 新谷 紀人, 馬場 明道, 橋本 均. Serotonergic neuron specific miRNA, miR-375, regulates the expression of genes governing serotonergic function. 宜野湾市. 2013年10月24~26日. 第23回日本臨床精神神経薬理学会・第43回日本神経精神薬理学会 合同年会</p> <p>橋本 均, 尾形 勝弥, 新谷 紀人, 早田 敦子, 勢力 薫, 百崎 久恵, 東 信太郎, 藤尾 慈, 馬場 明道. Morphological effects of PACAP on primary hippocampal neurons. 宜野湾市. 2013年10月24~26日. 第23回日本臨床精神神経薬理学会・第43回日本神経精神薬理学会 合同年会</p> <p>尾中 勇祐, 新谷 紀人, 武永 理佐, 叶 拓也, 木野村 元彦, 羽場 亮太, 平井 博之, 永田 欣也, 中村 正孝, 早田 敦子, 笠井 淳司, 馬場 明道, 橋本 均. Effects of CRTH2 deficiency on the behavioral defects in mice model of affective diseases. 宜野湾市. 2013年10月24~26日. 第23回日本臨床精神神経薬理学会・第43回日本神経精神薬理学会 合同年会</p> <p>井上 直樹, 新谷 紀人, 東 信太郎, 田中 翔大, 笠井 淳司, 早田 敦子, 橋本 均, 馬場 明道. ライブイメージングによるミトコンドリア形態制御因子 MIFI の作用機序解析. 熊本市. 2013年8月31日. 次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム2013</p> <p>早田 敦子, 円丁 直樹, 森口 啓太, 藤尾 慈, 新谷 紀人, 笠井 淳司, 馬場 明道, 橋本 均. Analysis of PACAP signaling-mediated receptor internalization using the HaloTag system. ハンガリー ペーチ市. 2013年8月27~31日. The 11th international symposium on VIP, PACAP and related peptide</p> <p>東 信太郎, 片木 和彦, 新谷 紀人, 開 菜摘, 田中 翔大, 笠井 淳司, 早田 敦子, 橋本 均, 馬場 明道. 新規ミトコンドリア融合阻害因子 MIFI の膜β細胞特異的過剰発現マウスを用いた生理・病態機能解析. 名古屋市. 2013年7月12日. 第123回日本薬理学会近畿部会</p> <p>橋本 均. 日本神経化学学会 理事会企画シンポジウム(統合失調症の分子病態と治療:原因解明と治療法開発の戦略とは) 統合失調症とPACAPシグナル経路. 2013年6月20~23日. Neuro2013 第36回日本神経科学大会・第56回日本神経化学学会大会・第23回日本神経回路学会大会 合同大会</p> <p>尾中 勇祐, 叶 拓也, 新谷 紀人, 武永 理佐, 羽場 亮太, 早田 敦子, 笠井 淳司, 平井 博之, 永田 欣也, 中村 正孝, 馬場 明道, 橋本 均. Altered cognitive function in mice lacking prostanoid receptor DP2. 京都市. 2013年6月20~23日. Neuro2013 第36回日本神経科学大会・第56回日本神経化学学会大会・第23回日本神経回路学会大会 合同大会</p> <p>勢力 薫, 早田 敦子, 尾形 勝弥, 新谷 紀人, 笠井 淳司, 馬場 明道, 橋本 均. Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) plays significant roles in dendritic spine formation. 京都市. 2013年6月20~23日. Neuro2013 第36回日本神経科学大会・第56回日本神経化学学会大会・第23回日本神経回路学会大会 合同大会</p> <p>橋本 均, 新谷 紀人, 羽場 亮太, 尾中 勇祐. プロスタグランジン D2 受容体サブタイプ DP2 (CRTH2)の脳機能. 東京. 2013年5月9~10日. 第10回GPCR研究会</p> <p>一般向け 計0件</p>
--	---

様式19 別紙1

図書 計0件	
産業財産権 出願・取得状 況 計0件	(取得済み) 計0件 (出願中) 計0件
Webページ (URL)	大阪大学・最先端・次世代研究開発支援プログラム http://www.osaka-u.ac.jp/ja/research/program_next 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 http://www.lserp.osaka-u.ac.jp/index_jisedai.html
国民との科 学・技術対話 の実施状況	大阪大学・オープンキャンパス 実施日： 2013年8月12日(月) 場 所： 大阪大学大学院薬学研究科 対象者： 高校生およびそのご家族をはじめとする学外の方 参加者数： 約25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。
新聞・一般雑 誌等掲載 計0件	
その他	大阪大学 NewsLetter 2013年59号 (発行部数28,000部) 特集「総長と若手研究者との対談－創薬基盤科学研究で総力結集」において、「心の病気の治療薬を目指す」として掲載され、本誌は、文部科学省、企業、マスメディア、地方自治体、他大学・高校、商工会議所、大使館や在日外公官、入学式の保護者等に配布された。これにより、本研究課題に関する多くの反響が寄せられた。 BioMed サーカス 新谷 紀人、羽場 亮太、橋本 均、馬場 明道 炎症時の情動関連障害はプロスタノイド受容体 GRTH2 を介して発現する 2014年03月29日

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成25年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

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	96,000,000	26,000,000	0	0
間接経費	36,600,000	28,800,000	7,800,000	0	0
合計	158,600,000	124,800,000	33,800,000	0	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	15,437,371	26,000,000	0	41,437,371	41,437,371	0	0
間接経費	3,353,636	7,800,000	0	11,153,636	11,153,636	0	0
合計	18,791,007	33,800,000	0	52,591,007	52,591,007	0	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	37,041,454	リニアスライサー、実験試薬等
旅費	3,073,250	学会発表旅費等
謝金・人件費等	0	
その他	1,322,667	DNAカスタム合成、シーケンス解析等
直接経費計	41,437,371	
間接経費計	11,153,636	
合計	52,591,007	

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
リニアスライサー	堂坂イーエム(株) 製 MH-1	1	1,755,600	1,755,600	2013/6/24	大阪大学
顕微鏡用電動XYス テージセット	(株)ニコン製 TI- S-ER	1	2,205,000	2,205,000	2013/6/24	大阪大学
高精度位置決め自 動ステージシステム	コムス(株)製 PA180S- 200X50Z50W100 Y-1353	1	2,989,350	2,989,350	2013/7/31	大阪大学
Lonza Nucleofector 2b デバイス	AAB-1001	1	992,250	992,250	2013/10/22	大阪大学
Milli-Q Integral 3 S.Kit(JP)	独国メルク社製 ハ イタイプ/60Lタンク キット,J1 STAND,サ ポートプラス	1	1,958,145	1,958,145	2013/11/20	大阪大学
Thermo安全キャビ ネット1385	1355パッケージ ClassII	1	1,039,500	1,039,500	2013/11/14	大阪大学
レーザーコンバイナ システム	横川電機(株)製 LDSYS- 488/561-	1	6,279,000	6,279,000	2013/12/13	大阪大学
3D細胞核計測シス テム	アトックエンジニアリング (株)製TRI/FCS- NUL64	1	8,053,500	8,053,500	2014/1/29	大阪大学