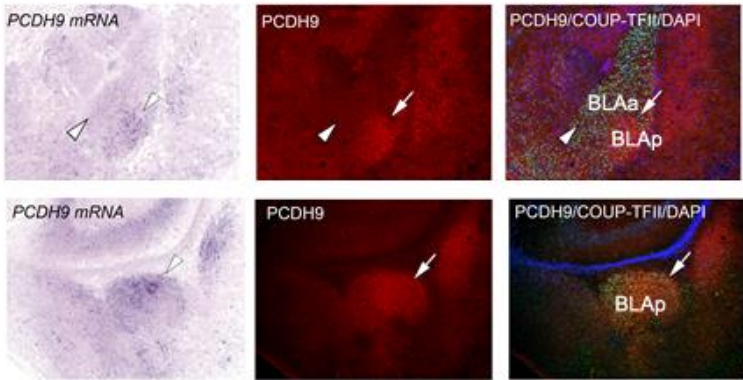
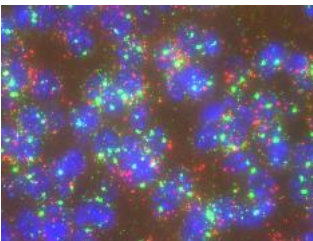


研究成果報告書の概要

講座等名	生物学教室	事業推進者名	平野 伸二
所属部門	神経部門		
分担研究課題	神経系形成におけるプロトカドヘリンの機能と役割の解明		
キーワード	カドヘリン、プロトカドヘリン		
講座内の本プロジェクト参加研究者数	5名		
<p>研究組織（本プロジェクトに参加する研究者、大学院生等のリストおよびそれぞれの役割）</p> <p>平野 伸二（教授） マウスの行動解析、全般の統括 上村 允人（助教） ノックアウトマウスの組織解析 岡野 圭子（講師） プロトカドヘリンの分子解析、ノックアウトマウスの組織解析 鈴木 信太郎（非常勤講師） プロトカドヘリンとカドヘリンによる接着機構の解析 中藤 美織（臨時職員） 実験補助</p>			
<p>研究成果の概要（令和元（2019）・令和2（2020）年度の研究成果について）</p> <p>本研究は、自閉症関連遺伝子であるプロトカドヘリン分子群の神経系における役割と精神疾患との関連についてノックアウトマウスを用いて解明することを目的としている。</p> <p>1) 自閉症関連遺伝子プロトカドヘリン9のノックアウトマウスの解析</p> <p>まず、プロトカドヘリン9の扁桃体での発現分布をより詳細検討した。まず、in situ ハイブリダイゼーションによって mRNA の発現を、免疫組織化学法によりタンパク質の分布を見たところ、プロトカドヘリン9は BLA 後部に多く発現・分布していることが明らかになった（図1）。さらに、プロトカドヘリン9を発現する細胞の同定を試みた。恐怖情動を OFF にする細胞のマーカーである Ppp1rb とプロトカドヘリン9について二重 in situ ハイブリダイゼーションを行った結果、プロトカドヘリン9は Ppp1rb 陽性細胞で発現が見られることがわかった（図2）。以上の結果から、扁桃体後部ではプロトカドヘリン9陽性細胞が、快不快情動に関与している可能性が考えられた。</p>			
			
<p>図1 扁桃体におけるプロトカドヘリン9 (PCDH9)の発現と分布</p>			
			
<p>図2 BLA 後部におけるプロトカドヘリン9（緑）と Ppp1rb（赤）の発現</p>			

次に、海馬におけるプロトカドヘリン9の役割を調べるために、交配により Thy-1GFP を発現するプロトカドヘリン9ノックアウトマウスを作成した。Thy-1 GFP は、海馬の錐体ニューロンで発現しているため、ノックアウトマウスでそのスパインの形成を調べた。その結果ノックアウトマウスでは、スパインの数が減少していることが明らかになった。これについては、従来法のゴルジ染色によっても確認された。また、これまでにノックアウトマウスの脳室が大きくなっていることを見出したが、今期にその定量化を行った。

一方、これまでにノックアウトマウスの行動解析を理化学研究所の古瀬民生博士らと共同研究を行い、新奇物体を避けるという情動行動の亢進が見られていたが、今回それが恐怖によるものかどうかを、ビー玉隠しテストを行い検討した。その結果、オープンフィールドテストではノックアウトマウスの中心の滞在時間が少ないなどの情動が高まっている傾向が確認されたが、ビー玉隠しテストでは有意な差はみられなかったため、従って、ノックアウトマウスの新奇物体の忌避は、恐怖によるものではなく、不快情動の亢進の可能性が考えられた。

2) 古典的カドヘリンの接着機構

古典的カドヘリンの接着機構を解明するために、カドヘリンとその結合分子である α カテニンの欠損細胞を作成し、その表現型を解析した。特定の細胞外基質中では、それらの欠損細胞の接着は異常になっていることがわかった。