

平成 28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 脳科学研究戦略推進プログラム
(英語) Strategic Research Program for Brain Sciences

研究開発課題名： (日本語) カルシウムシグナル破綻に基づく精神疾患の分子細胞基盤解明と新規介入戦略の樹立
(英語) Elucidating the molecular and cellular basis of psychiatric disorders based on abnormal calcium signaling

研究開発担当者 (日本語) 名古屋大学環境医学研究所 教授 竹本さやか
所属 役職 氏名： (英語) Research Institute of Environmental Medicine, Nagoya University
Professor, Sayaka Takemoto-Kimura

実施期間： 平成 28年 5月 20日 ～ 平成 29年 3月 31日

II. 成果の概要 (総括研究報告)

和文

様々な精神疾患ゲノム研究により神経細胞内カルシウムシグナル破綻と精神疾患との関係が示唆されている。本研究では、精神疾患関連遺伝子群のなかで神経カルシウムシグナルを担う遺伝子群に着目し、遺伝子変異が分子機能に及ぼす影響を調べるとともに、分子の機能を促進あるいは抑制した病態モデル動物の開発および評価を推進する。また、モデル動物を活用した多階層の検討を行い、神経カルシウムシグナルの異常が精神疾患を引き起こす分子細胞病態の解明を目指す。

研究開発項目①:

神経回路発達におけるカルシウムシグナル経路の役割に着目し、神経カルシウムシグナルを担い自閉スペクトラム症や統合失調症にてリスク遺伝子であることが示唆される分子群の神経回路形成段階における生理機能解明を進めた。堀金慎一郎助教 (名古屋大学 環境医学研究所) が担当し、神経発生段階におけるカルシウム動態の観察するためのイメージング方法を確立した。また、藤井哉助教 (東京大学 大学院医学系研究科) とともに、候補分子の野生型および機能獲得型の発現が神経回

路形成へ与える影響を検討した。更に、若森実教授（東北大学 大学院歯学研究科）とともに、電気生理学的な手法を用いて、神経発生段階における幼弱神経細胞で観察されるカルシウム変動の分子機構について検討した。これらにより発生段階におけるカルシウム変動を担う分子を探索し、候補分子を同定した。

研究開発項目②:

既知の変異および Aleksic Branko 特任准教授（名古屋大学 大学院医学系研究科）が統合失調症や自閉スペクトラム症患者より見出した稀な遺伝子変異が分子機能に与える影響を明らかにするために変異体の発現ベクター開発を進めた。作成した変異体発現ベクターの生化学的評価、ならびに電気生理学的評価を若森実教授（東北大学 大学院歯学研究科）とともに実施し、独自に作出したベクターを用いた解析体制を整えた。

研究開発項目③:

分子の機能を促進あるいは抑制することを特定の時期・細胞群において可能とする、条件付き病態モデル動物の開発および評価を推進した。藤井哉助教（東京大学 大学院医学系研究科）が東京大学において条件付き機能喪失モデルマウスの交配を繰り返してホモ接合体を整備し、名古屋大学へ輸送した。また、融合脳 発達障害・統合失調症チーム内で、尾崎班 森大輔 特任准教授（名古屋大学 大学院医学系研究科）と竹本が連携し、条件付き機能獲得モデルマウスの作製について、デザインを確定後、ターゲティングベクターの作成を完了し、受精卵へのインジェクションを行った。

英文

In this project, we focused on a group of psychiatric disorder-related genes that recent human genetic studies indicate are responsible for neuronal calcium signaling. We are examining the effect of mutations on the molecular function of these genes and developing genetically modified disease mouse models, in which the pathophysiology arise from either gain- or loss-of-function mutations in a risk gene to be investigated. Utilizing these disease animal models we are planning to perform multi-faceted research, including molecular, cellular, and histological analyses.

Research and development plan 1:

Focusing on the role of the calcium-signaling pathway in neuronal circuit development, we aimed to elucidate the physiological functions of a group of molecules during the formation of neuronal circuits, which are responsible for neuronal calcium signaling and are suggested risk genes in autism spectrum disorder and schizophrenia.

Assistant Professor Shin-ichiro Horigane (Research Institute of Environmental Medicine, Nagoya University) have set up a live imaging experiment to investigate calcium dynamics in neurons at the neurodevelopmental stage. In addition, we examined the effect of the expression of the candidate molecule on neural circuit formation with Assistant Professor Hajime Fujii (Graduate School of Medicine, University of Tokyo). Furthermore, together with Professor Minoru Wakamori (Graduate School of Dentistry, Tohoku University), we investigated the molecular mechanism underlying calcium dynamics in juvenile neurons using electrophysiological methods. We explored candidate molecules responsible for calcium activities during the developmental stage through these investigations.

Research and development plan 2:

To clarify the effect of a rare single nucleotide mutation, identified by Associate Professor Branko Aleksic

(Graduate School of Medicine, Nagoya University) in schizophrenia and autism spectrum disorder patients, on molecular function, we developed expression vectors encoding the mutant genes and performed biochemical evaluation. Professor Minoru Wakamori (Graduate School of Dentistry, Tohoku University) further performed electrophysiological evaluations using the expression vectors.

Research and development plan 3:

We promoted the development and evaluation of a conditional disease mouse model that enables enhancing or reducing activity of the molecule at a specific time and/or in groups of cells. Assistant Professor Hajime Fujii (Graduate School of Medicine, University of Tokyo) prepared a homozygous colony of the conditional mouse model at the University of Tokyo and transported them to Nagoya University. In addition, we collaborated with Professor Norio Ozaki's group (Graduate School of Medicine, Nagoya University) to establish a novel conditional mouse model. Associate Professor Daisuke Mori in Norio Ozaki's group (Graduate School of Medicine, Nagoya University), cooperated with us to confirm the design and complete preparation of the targeting vector, which was injected into fertilized eggs.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 0 件、国際誌 1 件)

1. Takemoto-Kimura S, Suzuki K, Horigane SI, Kamijo S, Inoue M, Sakamoto M, Fujii H, Bito H. Calmodulin kinases: essential regulators in health and disease. *J Neurochem.* 2017 Mar 15. doi: 10.1111/jnc.14020.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表
該当なし

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
該当なし

(4) 特許出願