

目的：化学物質による遅発性の情動認知行動毒性の分子基盤を明らかにする
まとめ2

3) 「トリアゾラム」、「イボテン酸」共に、幼若期投与の際、

- ・遅発性の学習記憶異常が認められた。
- ・Npas4及びBdnf遺伝子の発現減少が認められた

■両化合物投与に共通して、発現減少が認められたNpas4を含む遺伝子リスト
= 14 ps [13遺伝子]

⇒ このほとんどが「トリアゾラム」、「イボテン酸」共に Npas4の場合と同様な発現パターンを示した

⇒ Npas4と同じ局所シグナルネットワークである可能性が高い [発見]

★共通して発現減少した13遺伝子には、転写開始点上流に共通した結合配列が存在した [13遺伝子全てのプロモーターに共通: V\$EVSF; 12遺伝子のプロモーターに共通: 8種、O\$VTBP、V\$EGRF、V\$KLFS、V\$MAZF、V\$MZF1、V\$NR2F、V\$ZF02、V\$EVSF]

= 「遅発性の情動認知行動異常を誘発するシグナルネットワーク」
である可能性がある

Npas4遺伝子に着目した解析

転写因子Npas4は、シナプスの興奮と抑制の恒常的バランス維持に働く
「マスタースイッチ」:

Npas4は200個以上の活動依存的遺伝子の発現を制御しており、この働きにより、GABA介在性シナプスの数を制御する

Editor's Summary
30 October 2008

Balance of mind

A fine balance between the numbers of excitatory and inhibitory synapses must be maintained for neuronal circuits to function. The intracellular molecular signalling pathways involved in activity-dependent formation of synapses, particularly inhibitory ones, are largely unknown. A new study has identified the transcription factor **Npas4** as a 'master switch' acting in brain cells to maintain the homeostatic balance between synaptic excitation and inhibition, a balance that is thought to be disrupted in neurologic disorders such as autism, epilepsy and schizophrenia. Npas4 acts by regulating the expression of more than 200 activity-dependent genes, which in turn control the number of GABA-mediated synapses that form excitatory neurons

Article:

Activity-dependent regulation of inhibitory synapse development by Npas4
Yingxi Lin, Brenda L. Bloodgood, Jessica L. Hauser, Ariya D. Lapan, Alex C. Koon, Tae-Kyung Kim, Linda S. Hu, Athar N. Malik & Michael E. Greenberg
doi:10.1038/nature07319

Npas4のMedline検索結果[動向] [Npas4 = (bHLH-PAS factor) NXF] 2011. 2. 9現在

Results: 16

1. Factors responsible for neurofibrillary tangles and neuronal cell losses in tauopathy.
Wakasaya Y, Kawarabayashi T, Watanabe M, Yamamoto-Watanabe Y, Takamura A, Kurata T, Murakami T, Abe K, Yamada K, Wakabayashi K, Sasaki A, Westaway D, Hyslop PS, Matsubara E, Shoji M.
J Neurosci Res. 2011 Jan 13.
2. Chronic restraint stress impairs neurogenesis and hippocampus-dependent fear memory in mice: possible involvement of a brain-specific transcription factor Npas4.
Yun J, Koike H, Ibi D, Toth E, Mizoguchi H, Nitta A, Yoneyama M, Ogita K, Yoneda Y, Nabeshima T, Nagai T, Yamada K.
J Neurochem. 2010 Sep;114(6):1840-51.
3. The dissection of transcriptional modules regulated by various drugs of abuse in the mouse striatum.
Piechota M, Korostynski M, Solecki W, Gieryk A, Slezak M, Bilecki W, Ziolkowska B, Kostrzewa E, Cyerman I, Swiech L, Jaworski J, Przewlocki R.
Genome Biol. 2010;11(5):R48.
4. Widespread transcription at neuronal activity-regulated enhancers.
Kim TK, Hemberg M, Gray JM, Costa AM, Bear DM, Wu J, Harmin DA, Laptewicz M, Barbara-Haley K, Kuersten S, Markenscoff-Papadimitriou E, Kuhl D, Bito H, Worley PF, Kreiman G, Greenberg ME.
Nature. 2010 May 13;465(7295):182-7.

Npas4のMedline検索結果[動向] [Npas4 = (bHLH-PAS factor) NXF] 2011. 2. 9現在

Results: 16 [続き]

5. [Interchromatin granule clusters of mouse preovulatory oocytes, organization, molecular composition and possible functions].

Pochukalina GN, Bogoliubov DS, Parfenov VN.
Tsitologiya. 2010;52(1):30-40. Russian.

6. Melatonin receptor 1-dependent gene expression in the mouse pars tuberalis as revealed by cDNA microarray analysis and in situ hybridization.

Unfried C, Burbach G, Korf HW, von Gall C.
J Pineal Res. 2010 Mar;48(2):148-56.

7. Nuclear calcium signaling controls expression of a large gene pool: identification of a gene program for acquired neuroprotection induced by synaptic activity.

Zhang SJ, Zou M, Lu L, Lau D, Ditzel DA, Delucinge-Vivier C, Aso Y, Descombes P, Bading H.
PLoS Genet. 2009 Aug;5(8):e1000604.

8. Characterization of functional heterodimer partners in brain for a bHLH-PAS factor NXF.

Ooe N, Saito K, Kaneko H.
Biochim Biophys Acta. 2009 Mar;1789(3):192-7.

9. Functional characterization of basic helix-loop-helix-PAS type transcription factor NXF in vivo: putative involvement in an "on demand" neuroprotection system.

Ooe N, Motonaga K, Kobayashi K, Saito K, Kaneko H.
J Biol Chem. 2009 Jan 9;284(2):1057-63.

Npas4のMedline検索結果[動向] [Npas4 = (bHLH-PAS factor) NXF] 2011. 2. 9現在

Results: 16 [続き]

10. Activity-dependent regulation of inhibitory synapse development by Npas4.

Lin Y, Bloodgood BL, Hauser JL, Lapan AD, Koon AC, Kim TK, Hu LS, Malik AN, Greenberg ME.
Nature. 2008 Oct 30;455(7217):1198-204.

11. Kinase networks integrate profiles of N-methyl-D-aspartate receptor-mediated gene expression in hippocampus.

Coba MP, Valor LM, Kopanitsa MV, Afinowi NO, Grant SG.
J Biol Chem. 2008 Dec 5;283(49):34101-7.

12. Social isolation rearing-induced impairment of the hippocampal neurogenesis is associated with deficits in spatial memory and emotion-related behaviors in juvenile mice.

Ibi D, Takuma K, Koike H, Mizoguchi H, Tsuritani K, Kuwahara Y, Kamei H, Nagai T, Yoneda Y, Nabeshima T, Yamada K.
J Neurochem. 2008 May;105(3):921-32.

13. Transcriptional specificity of Drosophila dysfusion and the control of tracheal fusion cell gene expression.

Jiang L, Crews ST.
J Biol Chem. 2007 Sep 28;282(39):28659-68.

14. Characterization of Drosophila and Caenorhabditis elegans NXF-like-factors, putative homologs of mammalian NXF.

Ooe N, Saito K, Oeda K, Nakatuka I, Kaneko H.
Gene. 2007 Oct 1;400(1-2):122-30.

Npas4のMedline検索結果[動向] [Npas4 = (bHLH-PAS factor) NXF] 2011. 2. 9現在

Results: 16 [続き]

15. Npas4, a novel helix-loop-helix PAS domain protein, is regulated in response to cerebral ischemia. Shamloo M, Soriano L, von Schack D, Rickhag M, Chin DJ, Gonzalez-Zulueta M, Gido G, Urfer R, Wieloch T, Nikolich K. Eur J Neurosci. 2006

16. Identification of a novel basic helix-loop-helix-PAS factor, NXF, reveals a Sim2 competitive, positive regulatory role in dendritic-cytoskeleton modulator drebrin gene expression.

Ooe N, Saito K, Mikami N, Nakatuka I, Kaneko H.

Mol Cell Biol. 2004

positive regulatory role in dendritic-cytoskeleton modulator drebrin gene expression.

Ooe N, Saito K, Mikami N, Nakatuka I, Kaneko H.

Mol Cell Biol. 2004 Jan;24(2):608-16.

63

Npas4に著者らが着目した経緯

Npas4 is regulated by neuronal activity

The formation of inhibitory synapses onto excitatory neurons is regulated by neuronal activity, takes place over several days, and is a cell-wide process that results in the formation of synapses

onto both the cell body and dendrites. These features led us to hypothesize that activity-dependent development of inhibitory synapses might be controlled postsynaptically by one or more activity-regulated genes. To test this hypothesis, we used DNA microarrays to identify genes that are induced by membrane depolarization in mouse cortical neurons at the time when inhibitory synapses are developing.

We identified more than 300 genes whose expression levels were altered upon membrane depolarization (Gene Expression Omnibus accession number GSE11256), a third of which were novel activity-regulated genes not seen in previous screens. We looked for genes predicted to encode transcription factors, reasoning that, through genome-wide characterization of the targets of an activity-regulated transcription factor that controls inhibitory synapse number, we could gain insight into the biological program that is important for inhibitory synapse development. Among the approximately 20 known or putative transcription factors identified, we focused on genes that are selectively induced by Ca²⁺ influx in neurons but not other cell types, that are transcribed in response to excitatory synaptic activity, and that are expressed coincidentally with the development of inhibitory synapses. One transcription factor, the bHLH-PAS family member Npas4, fulfilled all these criteria (Fig. 1) and was investigated further. Unlike other activity-dependent transcription factors such as CREB and c-fos, Npas4 expression in neurons is selectively induced by Ca²⁺ influx but not by several neurotrophic factors, growth factors or forskolin, an activator of protein kinase A (Fig. 1b). Npas4 is induced in cultured neurons by the GABA_A-receptor antagonist bicuculline,

Npas4のノックダウンにより変動した遺伝子 [海馬の初代培養神経細胞を利用]

Supplemental List

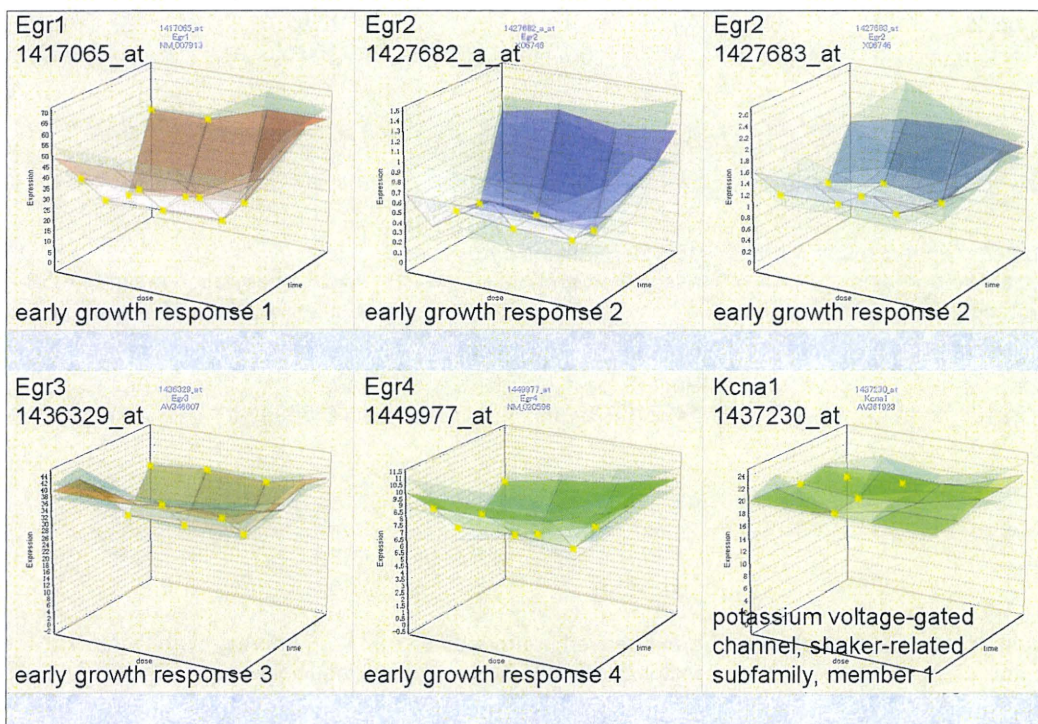
To uncover the program of gene expression controlled by Npas4, we acutely knocked down Npas4 expression in a high percentage of wild-type neurons using a lentivirus expressing Npas4-RNAi and performed a second DNA microarray experiment to identify activity-regulated genes that are misregulated in the absence of Npas4. **The expression levels of 327 microarray probe sets representing 270 unique genes were significantly different in cultures...**

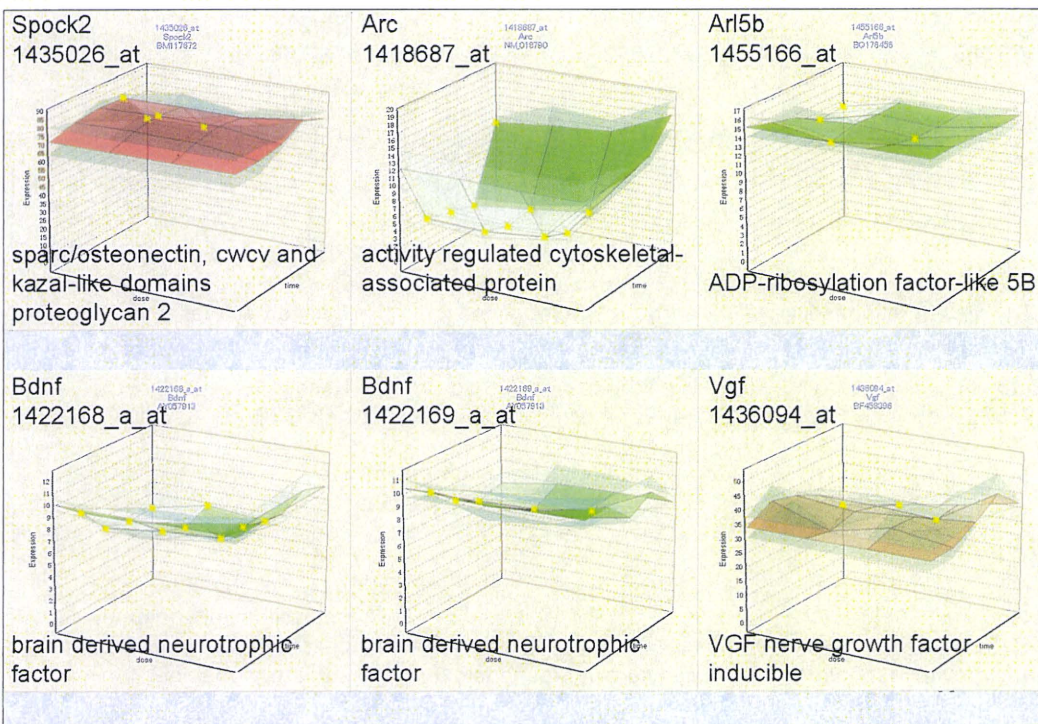
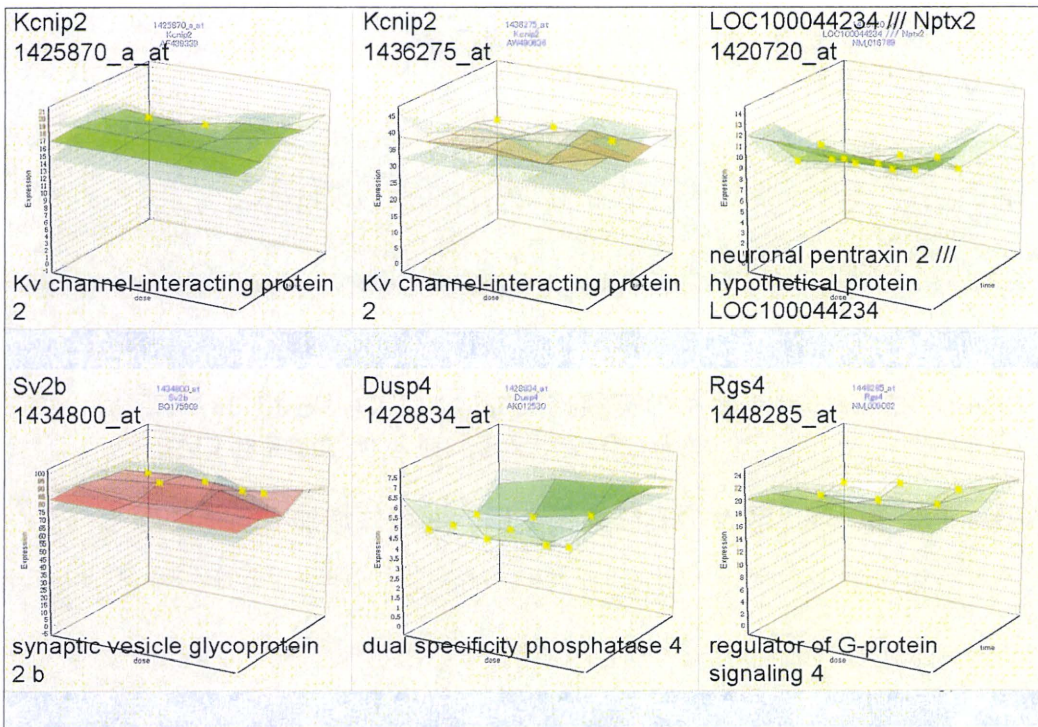
Npas4のノックダウン：

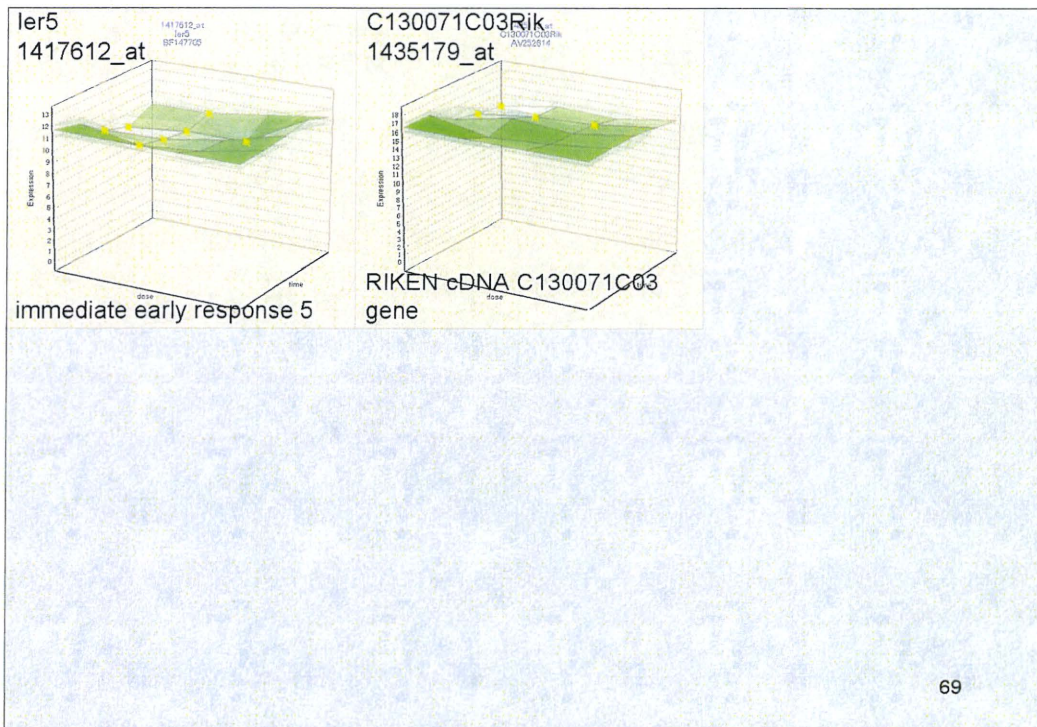
Down: 92 ps ⇒ 我々の実験結果では、このうち20 psが減少
Bdnf, Arc, Dusp4, Egr4, Rgs4, Kcna1が含まれていた

Up: 235 ps ⇒ 我々の実験結果では、顕著に増加するものなし

65



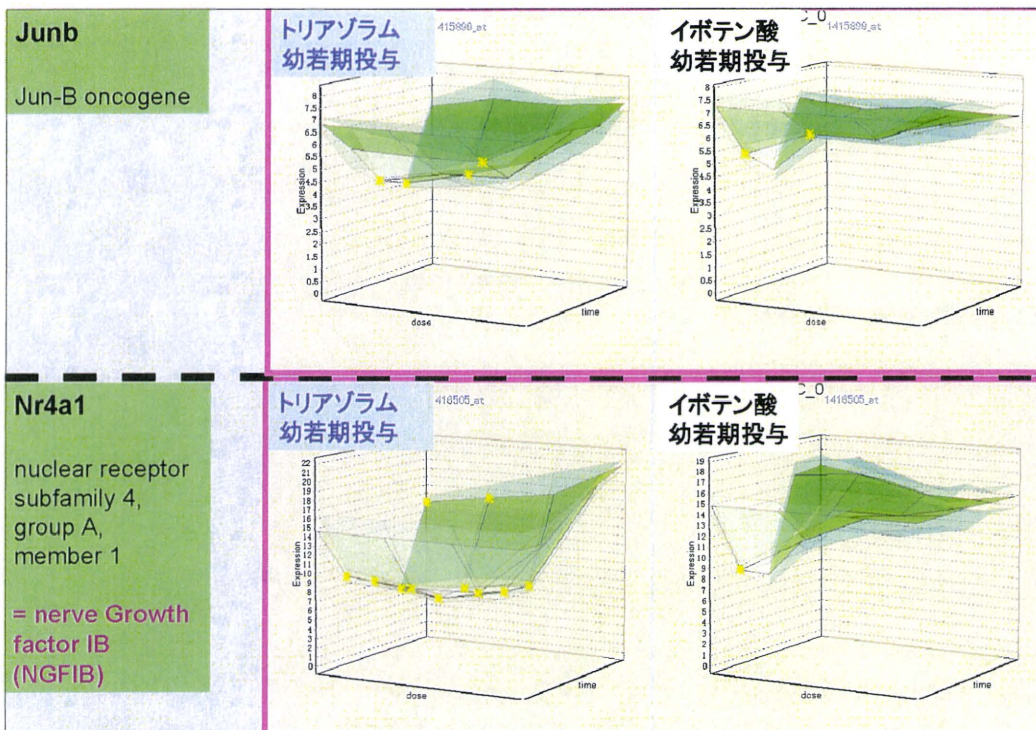




Npas4のノックダウン：

Down: 92 ps ⇒ 我々の実験結果では、このうち20 psが減少
Bdnf, Arc, Dusp4, Egr4, Rgs4, Kcna1が含まれていた

Junb (Jun-B oncogene)、**Nr4a1** (nuclear receptor subfamily 4, group A, member 1= nerve Growth factor 1B (NGF1B)) は、論文でのSupplement List 中 (増加、減少共に) に存在せず、これらの遺伝子とNpas4遺伝子との関連には新規性がある。



今 後

遅発性の情動認知行動毒性の誘発に関わる候補分子： **Npas4**

この分子に着目した検討

期待される成果

化学物質暴露による遅発性の
情動・認知行動毒性発現の評価系確立と包括的予測が可能となる

- ・ 化学物質暴露に起因し、遅発的に顕在化する情動・認知行動毒性に関する、化学物質のスクリーニング系を含む体系的ガイドラインの作成に大きく貢献する。

- ・ 子どもへの化学物質暴露による遅発性の情動・認知行動毒性の予測が可能となることで、現在注目される注意欠陥多動障害、学習障害等への具体的対応策提示が期待できる。

Table 1 Representatives of bHLH-PAS protein family members

-
- (1) response to environmental pollutants
 - AhR (aryl hydrocarbon receptor)
 - AhRR (AhR repressor)
 - (2) response to low oxygen
 - HIF (hypoxia inducible factor) 1 α , 2 α , 3 α
 - (3) neural development
 - SIM (single-minded) 1, SIM2
 - (4) circadian rhythm
 - per (period) 1, 2, 3
 - clock
 - BMAL (brain muscle ARNT-like) 1, 2
 - (5) general partner
 - Arnt (AhR nuclear translocator) 1, Arnt2
-

73

分担研究報告書

神経ガイダンス及び神経保護作用かく乱による遅発性中枢毒性発現機序の解明に関する研究

研究分担者 熊ノ郷 淳

大阪大学微生物病研究所 教授

【研究要旨】

ドーパミンニューロンの障害は情動、認知行動も含めた重大な発達障害をもたらすことが知られているが、免疫・神経クロストークを担うセマフォリン分子群に属する Sema4D タンパク添加がドーパミンニューロンに対する神経保護作用を有することを見出した。また Sema4D 欠損マウス、Sema4A 欠損マウスの神経学的行動解析から、Sema4D 欠損下の motor behavior の亢進異常、Sema4A 欠損下の網膜脱落を見出し、発達期におけるクラス4型セマフォリンの重要性も明らかにしている。

A. 研究目的

セマフォリンの有する神経ガイダンスや神経保護作用が種々の要因でかく乱された際の遅発性中枢毒性発現機序を解明することを目的としている。

B. 研究方法

免疫・神経クロストークを担うセマフォリン分子群の神経ガイダンス及び神経保護作用への中枢作動性物質の影響と遅発性中枢毒性発現機序をセマフォリン遺伝子欠損マウスを用いて解析した。ミトコンドリア毒としては 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine (MPTP) 及びドーパミン神経障害で農薬でもある rotenone を用い、in vitro と in vivo 双方の系でドーパミン作動ニューロンへのこれら薬剤の影響を検討した。また Sema4D の欠損下及び Sema4A の欠損下での神経学的行動解析を行った。動物実験は施設内の動物取り扱い指針に従って行った。

C. 研究結果

MPTP のドーパミン神経障害を観察する培養系を確立するとともに、免疫・神経クロストークを担うセマフォリン分子群に属する Sema4D タンパク添加がドーパミンニューロンに対する神経保護作用を有することを確認した。また Sema4D の発達期における行動様式決定における重要性を明らかにした。また Sema4D と同じくセマフォリンクラス4型に分類される Sema4A の遺伝子欠損マウスを用いた行動解析をする中で、Sema4A 欠損下では、レチノイド結合タンパクの輸送障害により網膜の光感受性が亢進して、網膜の脱落を来すことを新たに見出した。またこれら解析を進めて行く上での物質的基盤となるセマフォリン及びセマフォリン受容体の立体構造も明らかにしている。

D. E. 考察及び結論

神経ガイダンス因子の神経保護作用と発達期における行動様式における役割が明らかになった。今後神経細胞に対する作用メカニズムを詳細に検討していく必要がある。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1, 2. 論文発表及び学会発表

Nogi T, Yasui N, Mihara E, Matsunaga Y, Noda M, Yamashita N, Toyofuku T, Uchiyama S, Goshima Y, Kumanogoh A, Takagi J. Structural basis for semaphorin signalling through the plexin receptor. *Nature*. 467:1123-7. 2010.

Viola Maier, Christine Jolicoeur, Helen Rayburn, Noriko Takegahara, Atsushi Kumanogoh, Hitoshi Kikutani, Marc Tessier-Lavigne, Wolfgang Wurst, and Roland H. Friedel. Semaphorin 4C and 4G are ligands of Plexin-B2 required in cerebellar development. *Molecular and Cellular Neuroscience*. (in press).

Ishii H, Kubo T, Kumanogoh A, Yamashita T. Th1 cells promote neurite outgrowth from cortical neurons via a mechanism dependent on semaphorins. *Biochem Biophys Res Commun*. 402:168-72. 2010.

Ch'ng ES, Kumanogoh A. Roles of Sema4D and Plexin-B1 in tumor progression. *Mol Cancer*. 9:251. 2010

Wannemacher KM, Zhu L, Jiang H, Fong KP, Stalker TJ, Lee D, Tran AN, Neeves KB, Maloney S, Kumanogoh A, Kikutani H, Hammer DA, Diamond SL, Brass LF. Diminished

contact-dependent reinforcement of Syk activation underlies impaired thrombus growth in mice lacking Semaphorin 4D.

Blood. 116:5707-5715. 2010.

Takegahara N, Kang S, Nojima S, Takamatsu H, Okuno T, Kikutani H, Toyofuku T, Kumanogoh A. Integral roles of a guanine nucleotide exchange factor, FARP2, in osteoclast podosome rearrangements. *FASEB J*. 24:4782-4792. 2010.

Kumanogoh A, Kikutani H. Semaphorins and their receptors: novel features of neural guidance molecules. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*. 86:611-20. 2010.

Takamatsu H, Takegahara N, Nakagawa Y, Tomura M, Taniguchi M, Friedel RH, Rayburn H, Tessier-Lavigne M, Yoshida Y, Okuno T, Mizui M, Kang S, Nojima S, Tsujimura T, Nakatsuji Y, Katayama I, Toyofuku T, Kikutani H, Kumanogoh A. Semaphorins guide the entry of dendritic cells into the lymphatics by activating myosin II. *Nat Immunol*. 11: 594-600, 2010.

Yukawa K, Tanaka T, Kishino M, Yoshida K, Takeuchi N, Ito T, Takamatsu H, Kikutani H, Kumanogoh A. Deletion of Sema4D gene reduces intimal neovascularization and

plaque growth in apolipoprotein E-deficient mice. *Int J Mol Med*. 26:39-44. 2010.

Kumanogoh A, Ogata M. The study of cytokines by Japanese researchers: a historical perspective. *Int Immunol*. 22:341-5. 2010.

Kinoshita M., Y. Nakatsuji, T. Kimura, M. Moriya, K. Takata, T. Okuno, A. Kumanogoh, K. Kajiyama, H. Yoshikawa, S. Sakoda Anti-aquaporin-4 antibody induces astrocytic cytotoxicity in the absence of CNS antigen-specific T cell. *Biochem Biophys Res Commun*. 394:205-10. 2010.

Nawabi H, Briançon-Marjollet A, Clark C, Sanyas I, Takamatsu H, Okuno T, Kumanogoh A, Bozonl M, Takeshima K, Yoshida Y, Moret F, Abouzidl K, and Castellani V. A midline switch of receptor processing regulates commissural axon guidance in vertebrates. *Gen Dev*. 24:396-410, 2010.

Takamatsu H, Okuno T, and Kumanogoh A. Regulation of immune cell responses by semaphorins and their receptors. *Cell Mol Immunol*. 7:83-8. 2010.

Kataoka T, Kumanogoh A, Bandara G, Metcalfe D, and Gilfillan A. CD72 negatively regulates KIT-mediated responses in human mast cells. *J Immunol*. 184:2468-2475. 2010.

Okuno T, Nakatsuji Y, Moriya M, Takamatsu H, Nojima S, Takegahara N, Toyofuku T,

Nakagawa Y, Sujin Kang, Friedel RH, Sakoda S, Kikutani K and Kumanogoh A. Involvement of Sema4D-Plexin-B1 interactions in the CNS for pathogenesis of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol*. 184: 1499-1506, 2010. .

Yukawa K, Tanaka T, Yoshida K, Takeuchi N, Ito T, Takamatsu H, Kikutani H, Kumanogoh A. Sema4A induces cell morphological changes through B-type plexin-mediated signaling. *Int J Mol Med*. 25:225-30. 2010.

Li M, O'Sullivan KM, Jones LK, Lo C, Semple T, Kumanogoh A, Kikutani H, Holdsworth SR, Kitching R. Endogenous CD100 promotes glomerular injury and macrophage recruitment in experimental crescentic glomerulonephritis. *Immunology*. 128:114-22. 2009.

Kinoshita M, Nakatsuji Y, Kimura T, Moriya M, Takata K, Okuno T, Kumanogoh A, Kajiyama K, Yoshikawa H, Sakoda S. Neuromyelitis optica: Passive transfer to rats by human immunoglobulin. *Biochem Biophys Res Commun*. 386:623-7. 2009.

Yukawa K, Tanaka T, Takeuchi N, Iso H, Li L, Kohsaka A, Waki H, Miyajima M, Maeda M, Kikutani H, Kumanogoh A. Sema4D/CD100 deficiency leads to superior performance in mouse motor behavior. *Can J Neurol Sci*. 36:349-55. 2009.

Inui M, Kikuchi Y, Aoki N, Endo S, Maeda T, Sugahara-Tobinai A, Fujimura S, Nakamura A, Kumanogoh A, Colonna M, Takai T. Signal adaptor DAP10 associates with

MDL-1 and triggers osteoclastogenesis in cooperation with DAP12. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 106:4816-21. 2009.

Mizui M, Kumanogoh A, Kikutani H. Immune semaphorins: novel features of neural guidance molecules. *J Clin Immunol*. 29:1-11. 2009.

Kinoshita M, Nakatsuji Y, Moriya M, Okuno T, Kumanogoh A, Nakano M, Takahashi T, Fujihara K, Tanaka K, Sakoda S. Astrocytic necrosis is induced by anti-aquaporin-4 antibody-positive serum. *Neuroreport*. 20:508-12. 2009.

Schwarz Q, Waimey KE, Golding M, Takamatsu H, Kumanogoh A, Fujisawa H, Cheng HJ, Ruhrberg C. Plexin A3 and plexin A4 convey semaphorin signals during facial nerve development. *Dev Biol* 324:1-9. 2008.

Makino N, Toyofuku T, Takegahara N, Takamatsu H, Okuno T, Nakagawa Y, Kang S, Nojima S, Hori M, Kikutani H, Kumanogoh A. Involvement of Sema4A in the progression of experimental autoimmune myocarditis. *FEBS Lett*. 582:3935-40. 2008.

Toyofuku T, Yoshida J, Sugimoto T, Yamamoto M, Makino N, Takamatsu H, Takegahara N, Suto F, Hori M, Fujisawa H, Kumanogoh A(*corresponding author), Kikutani H. Repulsive and attractive semaphorins cooperate to direct the navigation of cardiac neural crest cells. *Dev Biol*. 321:251-62. 2008.

Moriya M, Nakatsuji Y, Miyamoto K, Okuno T, Kinoshita M, Kumanogoh A, Kusunoki S, Sakoda S. Edaravone, a free radical scavenger, ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis. *Neurosci Lett*. 440:323-6. 2008.

Sierra JR, Corso S, Caione L, Cepero V, Conrotto P, Cignetti A, Piacibello W, Kumanogoh A, Kikutani H, Comoglio PM, Tamagnone L, Giordano S. Tumor angiogenesis and progression are enhanced by Sema4D produced by tumor-associated macrophages. *J Exp Med*. 205:1673-85, 2008.

Suzuki K, Kumanogoh A, Kikutani H. Semaphorins and their receptors in immune cell interactions. *Nat Immunol*. 9:17-23, 2008.

H. 知的財産所有権の出願・登録状況（予定も含む）

出願番号：特願 2009-254108

出願日：平成 21 年 11 月 5 日

発明の名称：自己免疫疾患又はアレルギー治療剤とそのスクリーニング方法

発明者：熊ノ郷 淳

出願人：国立大学法人大阪大学

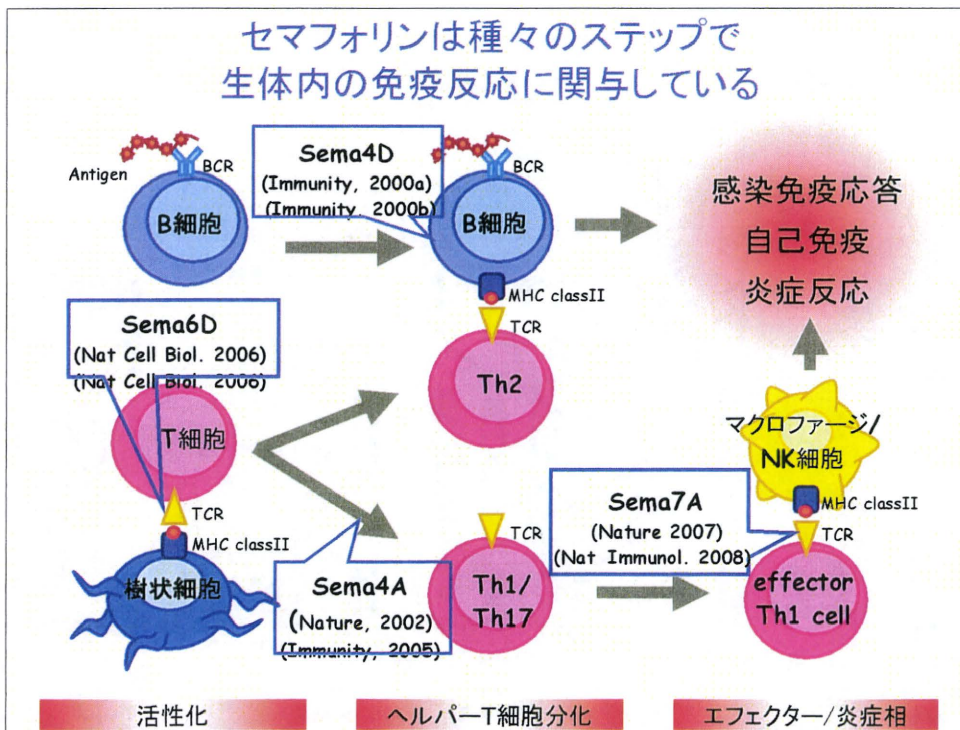
3. その他

なし

神経ガイダンス及び神経保護作用かく乱による 遅発性中枢毒性発現機序の解明

大阪大学免疫学フロンティア研究センター・感染病態分野
大阪大学大学院医学系研究科・呼吸器免疫アレルギー内科

熊ノ郷 淳



我々の一連の免疫研究がきっかけとなりセマフォリン分子群が「病気の鍵分子」であることが次々に明らかになっている
→疾患治療の新たな創薬ターゲットとして注目されている！

クラス3型

Sema3A欠損: 心臓の交感神経分布異常→突然死の原因 (*Nat Med*, 2007)、アトピー性皮膚炎
Sema3B, Sema3F: 肺がんのがん抑制遺伝子 (*PNAS* 2002等)
Sema3E: がん転移 (*JCI* 2010)

クラス4型

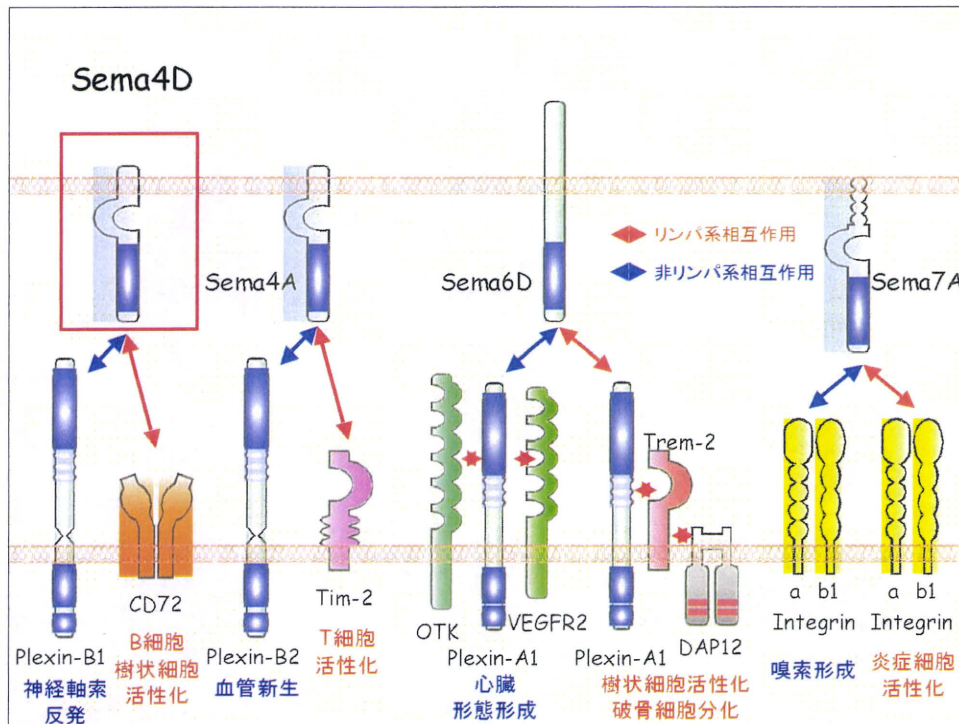
Sema4A欠損: アトピー性皮膚炎 (*Immunity* 2005), 多発性硬化症 (*Nature* 2002)
Sema4D欠損: 免疫不全症 (*Immunity* 2000)、がん浸潤 (*J Exp Med* 2009)

クラス7型

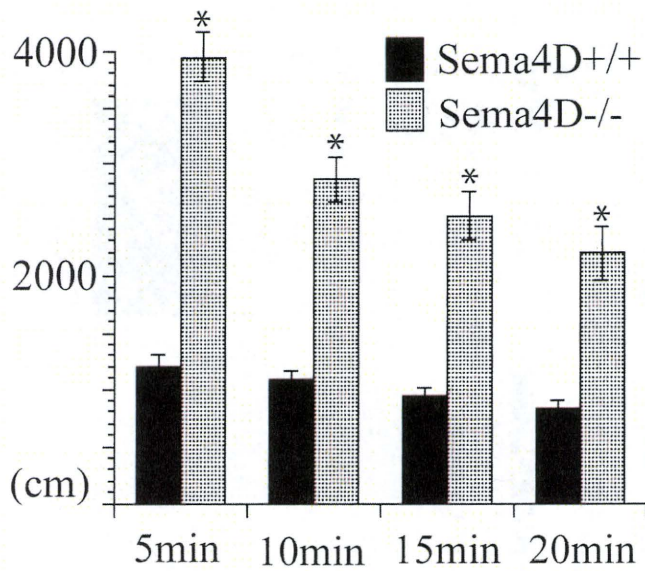
Sema7A欠損: 神経走行異常、接触性皮膚炎抵抗性 (*Nature* 2003, *Nature* 2007, *Cell* 2010)

セマフォリン受容体

Plexin-A1欠損: 骨粗鬆症 (*Nat Cell Biol* 2006)
統合失調症

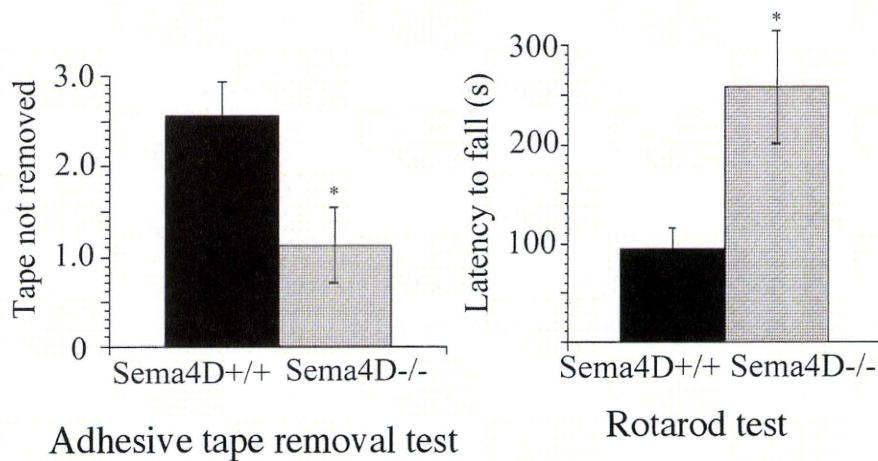


Enhanced locomotor activity of Sema4D-deficient mice in open-field tests

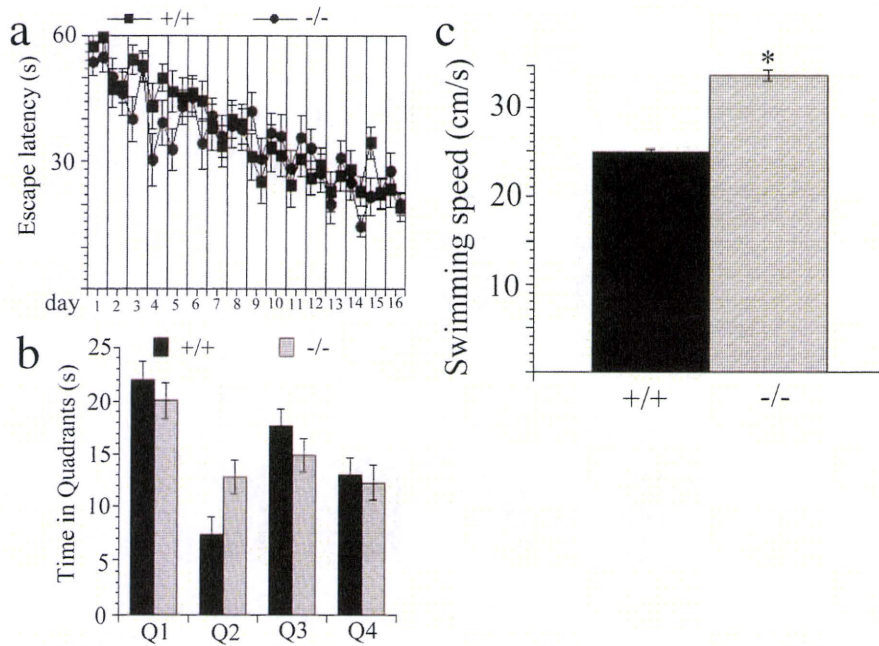


Can J Neurol Sci. 36:349-55. 2009

Superior performance of Sema4D-deficient mice in both adhesive tape removal and rotarod tests



Faster swimming speed of Sema4D-deficient mice



Sema4D/CD100-deficient mice showed

increased

- 1) locomotor activity in open-field tests,
- 2) superior performance in both the adhesive tape removal and rotarod tests which examine motor coordination and balance,
- 3) faster swimming speed than wild-type mice in Morris water maze,

but

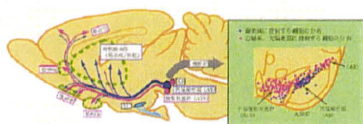
normal learning and memory in the water maze task.

→suggesting the crucial involvement of Sema4D in the neurodevelopmental processes of the central structures mediating motor behavior in mice.

Alternatively.....

It has been reported that RNAi Knock down of Sema4D affects the formation of GABAergic, but not glutamatergic, synapses (Neuron 53:217, 2007), which may be relevant to the hyperactivity of Sema4D-deficient mice.

ドーパミンニューロンとその障害



- ・中脳黒質緻密部のドーパミンニューロン
→線条体に投射し主に運動を制御。
- ・中脳腹側被蓋部のドーパミンニューロン
→大脳皮質、辺縁系に投射し主に情動を制御。

トウレット症候群

運動チックと音声チックとを主症状とする重症チックで6-8歳に好発。

注意欠陥多動性障害

年齢不相应な注意散漫・多動・衝動性を特徴し、6歳以前に好発する。

統合失調症

思考、知覚、自我意識、意志・欲望、感情など、多彩な精神機能の障害。

パーキンソン病

神経変性疾患。黒質緻密質のドーパミンニューロンの減少が特徴。運動症状(振戦、動作緩慢、筋強剛、姿勢反射障害の4大症状)が主体であるが、幻覚、妄想、抑うつなどの精神症状も高頻度に見られる。

MPTP投与によるドーパミンニューロンの障害

saline



MPTP投与後7日



チロシン水酸化酵素染色

MPTP腹腔内投与後に脳を採取し、チロシン水酸化酵素染色によるドーパミンニューロン数及びドーパミンニューロン線維密度の計測、HPLCによるドーパミン含有量測定にて評価。

分担研究報告書

神経活動イメージングによる中枢作動性物質の神経回路毒性解析

研究分担者 富永 貴志

徳島文理大学 准教授

【研究要旨】

神経回路機能に対する化学物質の影響-特に認知機能への影響を計測する手段として膜電位感受性色素（VSD）を用いて網羅的な評価を可能にする手法を開発する。本年は、引き続き記憶機能に障害を起し得る記憶喪失性貝毒の原因物質であるドーモイ酸の海馬機能への影響の解析を主題とし、*ex vivo* 標本でシナプス長期増強の異常を解析した。併せて新規顕微鏡によるランダムアクセス型の光刺激・計測による解析と改良、さらに新規共焦点顕微鏡を完成させ性能評価を行った。これでカルシウム信号の導出についても解析に加える準備ができた。

A. 研究目的

これまで情動・認知行動試験では、実際に小児期の化学物質への暴露により、発生・発達期、成熟期において中枢性の異常、影響が認められてきている。この化学物質の中枢神経毒性の遅延性発現の定量化は喫緊の課題である。そのメカニズム解析のために記憶・学習機能の中枢である海馬、海馬-嗅内野-扁桃核の機能、およびその相互作用を定量化することは重要で、それらの中枢神経回路機能の変化を定量化する手法の確立が求められている。本研究では、膜電位感受性色素による神経活動イメージング法を導入して、神経回路活動の定量を行い、*ex vivo*実験系（スライス標本）でマウスを材料と用いた毒性試験法を確立す

る。これにより、中枢神経作動性物質の毒性作用の遅延性発現の定量的なメカニズム解析を行うことを目的とする。

B. 研究方法

(1) 遺伝子改変マウスの神経回路機能評価（MIT 利根川研究室にて）
初めにスライス標本作成手段の標準化の検討を行い、スライス標本作製手段（角度、位置、厚みなど）を決定し、以降の実験で使用した。
内側嗅内野から CA1 野へ投射する貫通線維のシナプスで細胞特異的にテタヌス毒（TetX）を発現させた遺伝子改変マウスを用い、その貫通線維に電子刺激を加えた時の応答を光計測法により定量的に比較した。