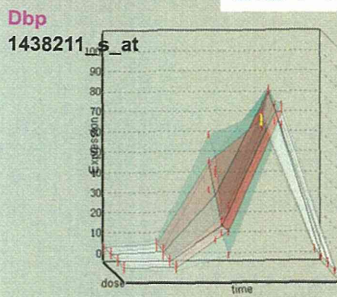


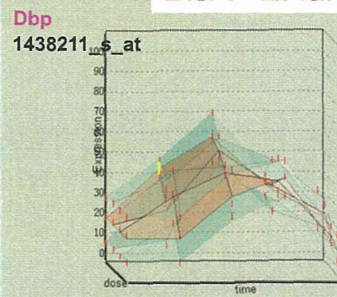
先行研究(平成24年度)

TTG183-L_SpNC_0 BisA Wild



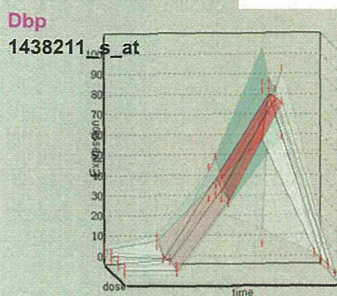
D site albumin promoter binding protein

TTG184-L_SpNC_0 BisA ERαKO



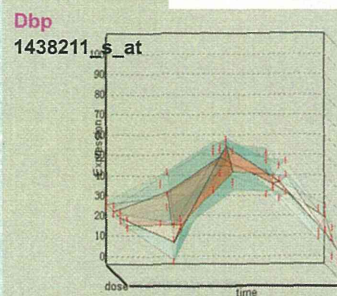
D site albumin promoter binding protein

TTG185-L(B)_SpNC_0 EE Wild



D site albumin promoter binding protein

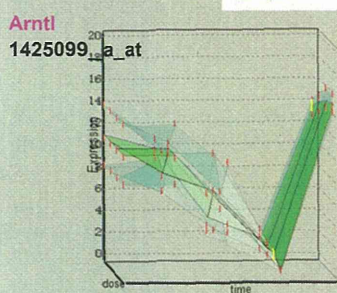
TTG186-L_SpNC_0 EE ERα KO



D site albumin promoter binding protein

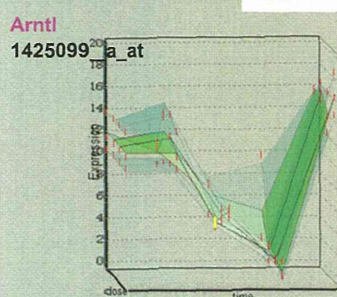
先行研究(平成24年度)

TTG183-L_SpNC_0 BisA Wild



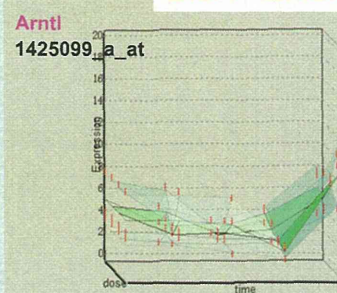
aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like

TTG185-L(B)_SpNC_0 EE Wild



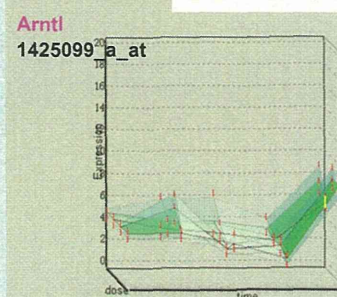
aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like

TTG184-L_SpNC_0 BisA ERαKO



aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like

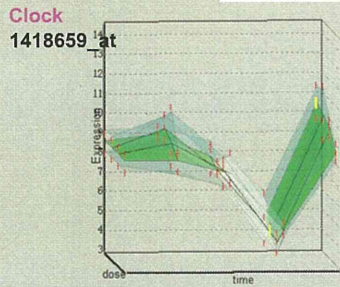
TTG186-L_SpNC_0 EE ERα KO



aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like

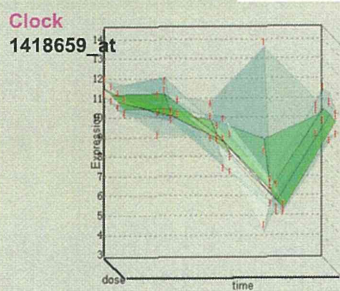
先行研究(平成24年度)

TTG183-L_SpNC_0 BisA Wild

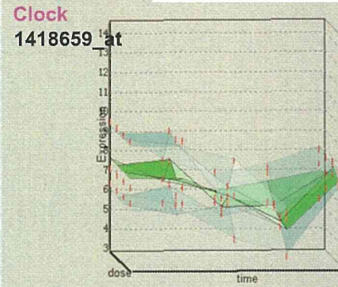


circadian locomotor output cycles kaput

TTG185-L(B)_SpNC_0 EE Wild

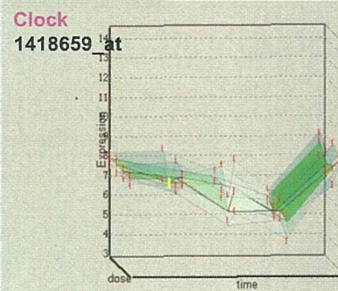


TTG184-L_SpN BisA ERαKO



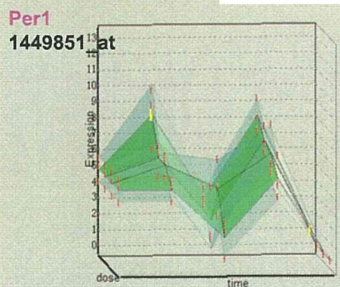
circadian locomotor output cycles kaput

TTG186-L_SpNC EE ERα KO



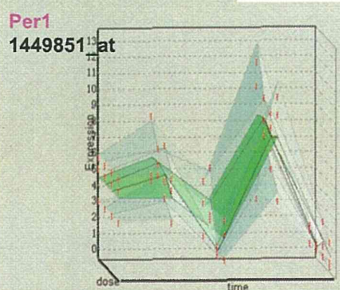
先行研究(平成24年度)

TTG183-L_SpNC_0 BisA Wild

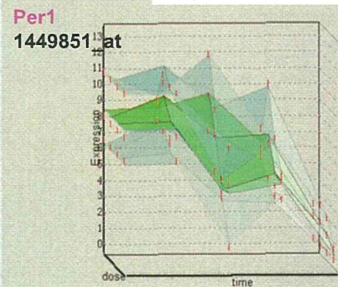


period homolog 1 (Drosophila)

TTG185-L(B)_SpNC_0 EE Wild

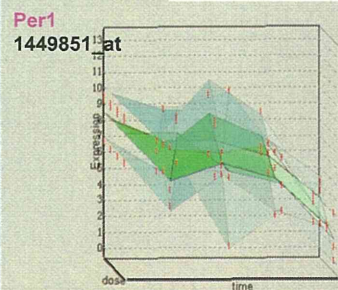


TTG184-L_SpN BisA ERαKO

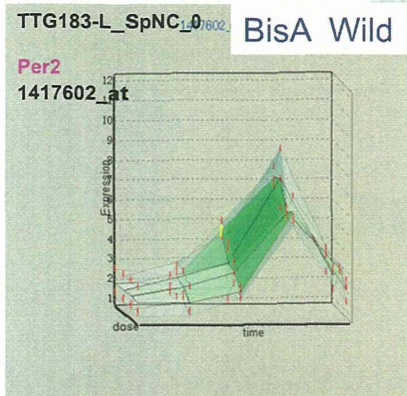


period homolog 1 (Drosophila)

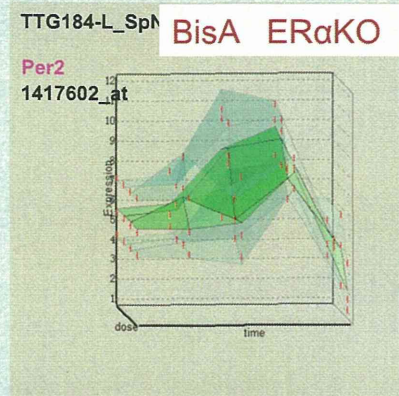
TTG186-L_SpNC EE ERα KO



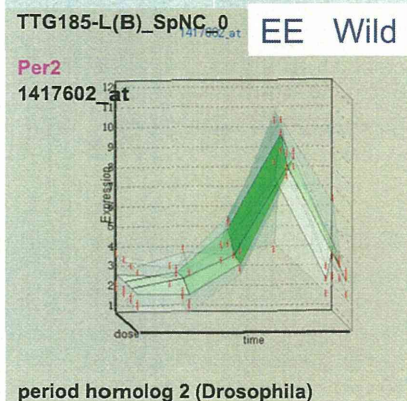
先行研究(平成24年度)



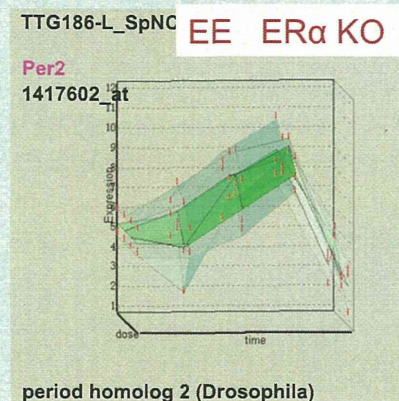
period homolog 2 (Drosophila)



period homolog 2 (Drosophila)



period homolog 2 (Drosophila)



period homolog 2 (Drosophila)

先行研究(平成24年度)

まとめ: 成熟期の雄性ERα欠失マウスの脳3部位(大脳皮質、海馬、脳幹)⇔野生型

・大脳皮質 (>細胞一個あたり1.0コピー)

ERα欠失マウス: 776 (増加:9、減少:767) psの有意な発現変動

RARシグナル伝達が低下し記憶障害が誘発する可能性、神経活動の活性化及び概日リズムが乱れる可能性を示唆

(RAR関連遺伝子、カリウムチャネル、グルタミン酸受容体、セロトニン受容体、概日リズム関連遺伝子、アンドロゲン受容体、メチルCpG結合タンパク(MBD)関連遺伝子)

・海馬 (>細胞一個あたり0.7コピー)

ERα欠失マウス: 21 (増加:8、減少:13) psの有意な発現変動

野生型マウスとERα欠失マウスとの間に違いは、現時点では認められない

・脳幹 (>細胞一個あたり0.8コピー)

ERα欠失マウス: 1,125 (増加:483、減少:642) psの有意な発現変動

概日リズムが乱れる可能性及び、神経活動が活性化している可能性を示唆

(概日リズム関連遺伝子、セロトニン受容体、カリウムチャネル、グルタミン酸受容体、GABA受容体、アンドロゲン受容体)

・アンドロゲン受容体の発現: 大脳皮質及び脳幹において低下

平成25年度本分担研究

網羅的遺伝子発現変動解析:

成熟期の雄性ER β 欠失マウスの脳3部位(大脳皮質、海馬、脳幹)

⇔野生型マウスと比較

⇔情動・認知行動解析の結果との比較検討

・ER β 欠失マウス: Pierre Chambon教授(フランス、ルイパスツール大学)より供与
(野生型マウスとER β 欠失マウスは同腹のものを使用)

・15週齢の成熟期マウスの脳3部位(大脳皮質、海馬、脳幹)(午前10時)(各n=4)

27

・脳3部位における、野生型及びER β 欠失マウスの遺伝子発現の比較
有意($P<0.05$)に変動したもの

細胞一個あたりの発現コピー数条件:

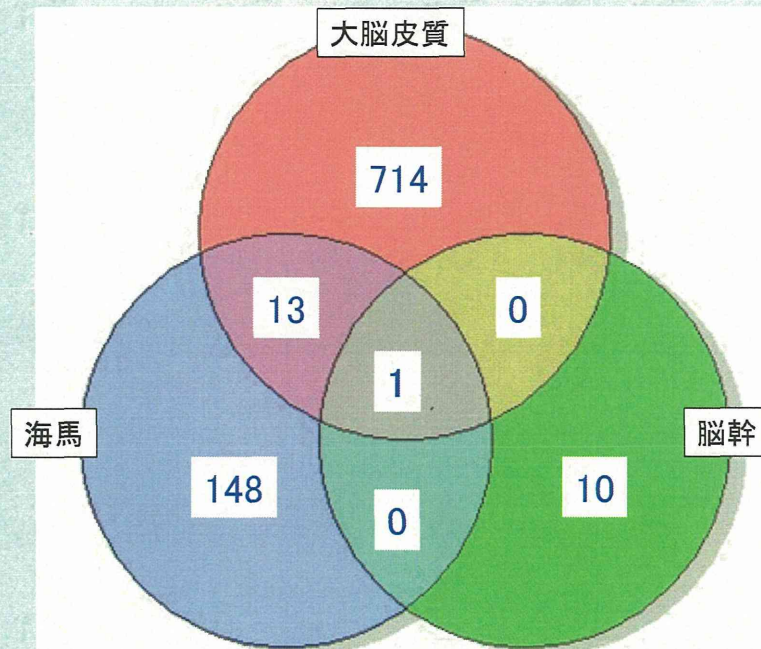
大脳皮質、海馬及び脳幹につき、それぞれ1.0、0.7及び0.8コピー以上

大脳皮質:	728 ps (増加)	24 ps (減少)
海馬:	162 ps (増加)	153 ps (減少)
脳幹:	11 ps (増加)	16 ps (減少)

増加 >1.200 ; 減少 <0.833

脳3部位の比較

野生型と比較し、ER β 欠失マウスの場合に、発現が有意に増加する遺伝子数



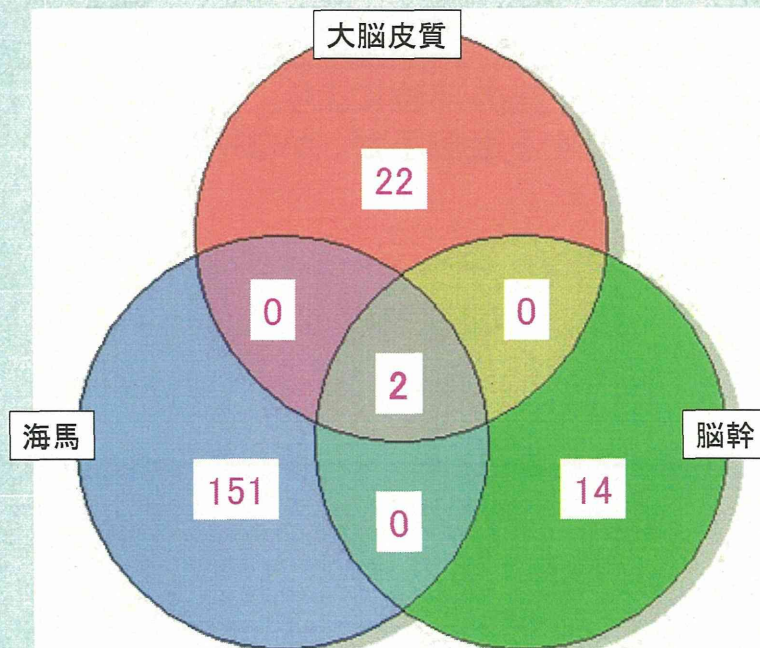
・3部位に共通して有意に減少した遺伝子:

Snapc1*

*: snRNA-activating protein complex subunit 1
: 核内低分子RNA活性化蛋白質複合体サブユニット1

脳3部位の比較

野生型と比較し、ER β 欠失マウスの場合に、発現が有意に減少する遺伝子数



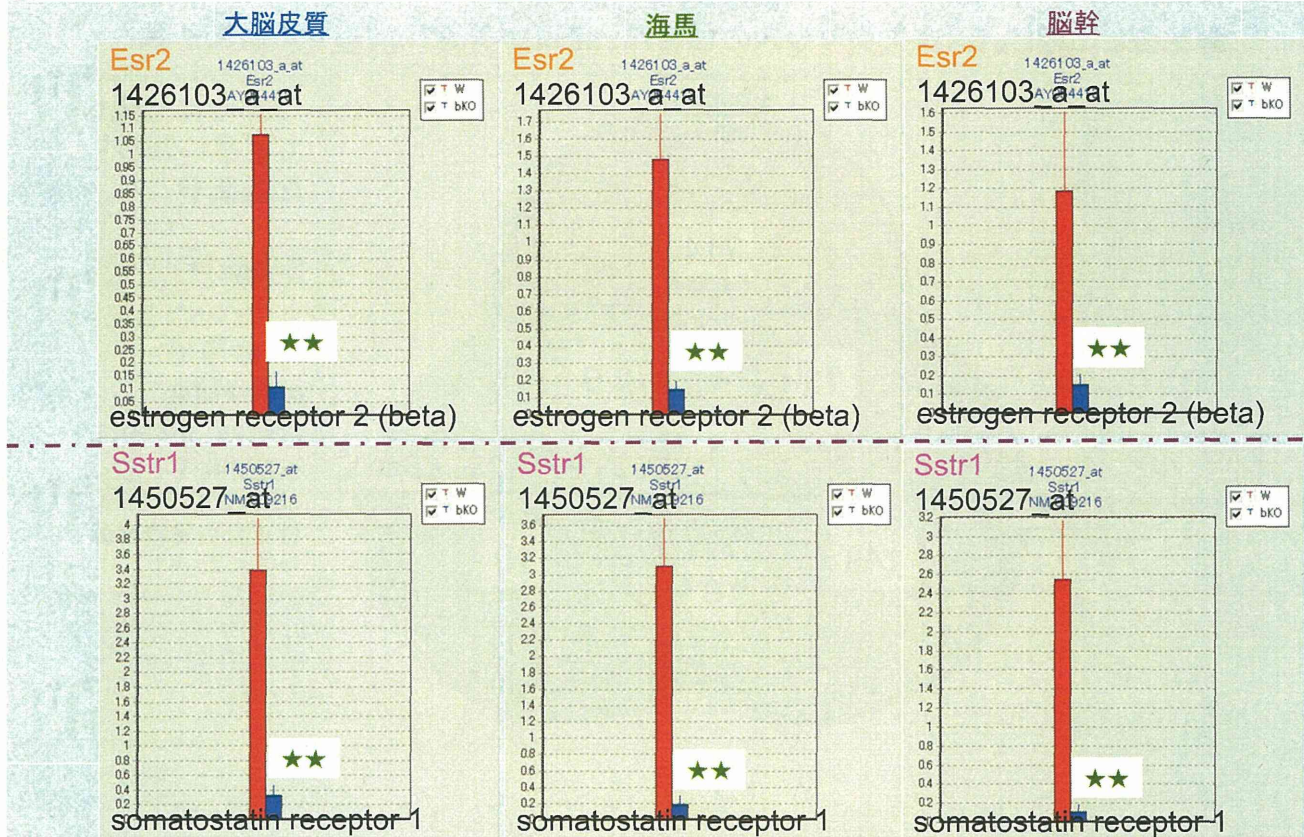
・3部位に共通して有意に減少した遺伝子:

Esr2とSstr1*

*: SOMATOSTATIN RECEPTOR 1

Sstr1:
1450527_at
エクソン2内に設定されていること確認

ER β (Esr2) 及び Sstr1 遺伝子発現の 大脳皮質 海馬 脳幹 における野生型と ER β 欠失マウスとの比較



野生型とER β 欠失マウス間で、脳の部位により、
有意に発現変動(増加・減少)する遺伝子が、かなり異なる

→ 部位ごとに分けて解析

- ・大脳皮質
- ・海馬
- ・脳幹

野生型とER β 欠失マウスとの比較

大脳皮質

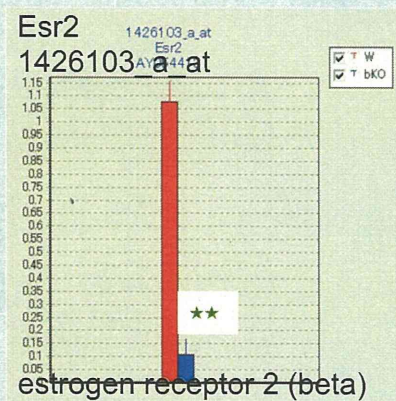
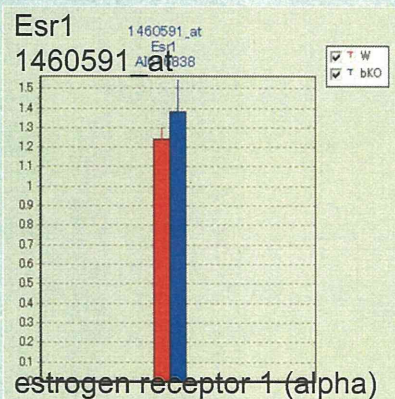
33

大脳皮質

野生型とER β 欠失マウスとの比較

ER α とER β 遺伝子の発現

赤: 野生型
青: ER β 欠失マウス



ER β の発現は有意に減少(著減)

34

大脳皮質

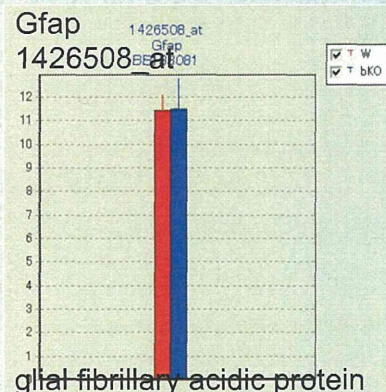
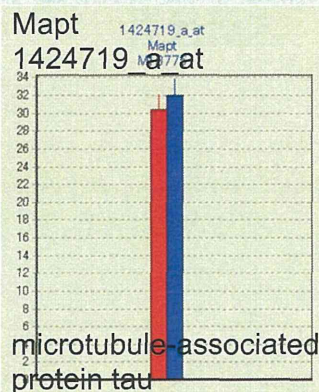
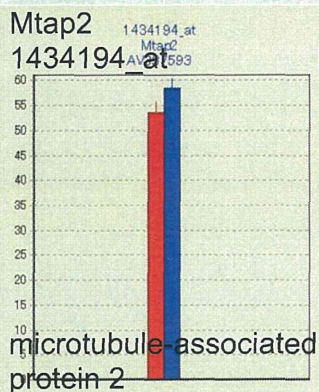
野生型とER β 欠失マウスとの比較

各細胞の分化マーカー遺伝子の発現：

ニューロン(Mtap2、Mapt)、アストロサイト(Gfap)、
オリゴデンドロサイト(Mag、Mbp)、神経幹細胞(Nes)

赤: 野生型

青: ER β 欠失マウス



35

大脳皮質

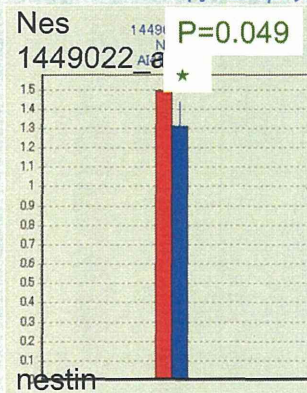
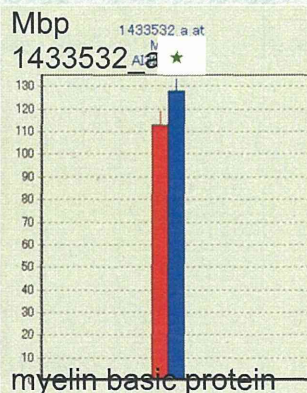
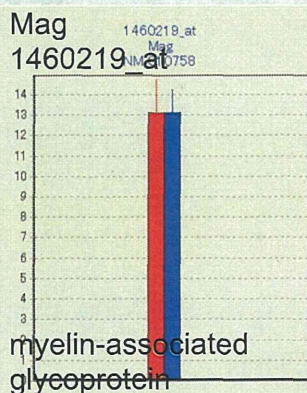
野生型とER β 欠失マウスとの比較

各細胞の分化マーカー遺伝子の発現：

ニューロン(Mtap2、Mapt)、アストロサイト(Gfap)、
オリゴデンドロサイト(Mag、Mbp)、神経幹細胞(Nes)

赤: 野生型

青: ER β 欠失マウス



- ・各分化マーカー： Mtap2では有意に減少、Maptでは有意差なし。Mbpでは有意に増加、Magでは有意差なし。Nesは有意に減少(P=0.049)(p値を考慮：著変ではない)
- ・各細胞の増殖・分化程度は、野生型とER β 欠失マウスとで同程度である事が示唆された

大脳皮質

ER β 欠失マウスにおいて、野生型マウスと比較し発現が有意に、

増加: 728 ps

減少: 24 ps

→ Pubmed検索

増加する遺伝子:

・カリウムチャネル、神経伝達物質受容体(アドレナリン受容体、セロトニン受容体、GABA-A受容体、ニューロペプチドY受容体)、軸索ガイダンス因子(エフリン、セマフォリン)、概日リズム関連遺伝子(Dbp、Nr1d2、Per3)、Gper (Gpr30)遺伝子

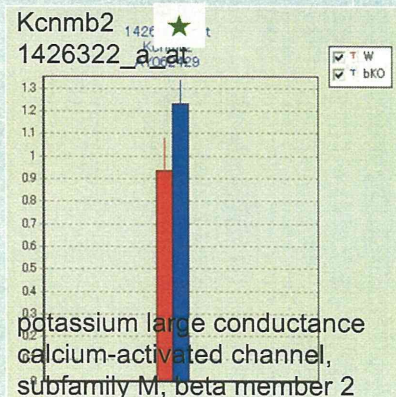
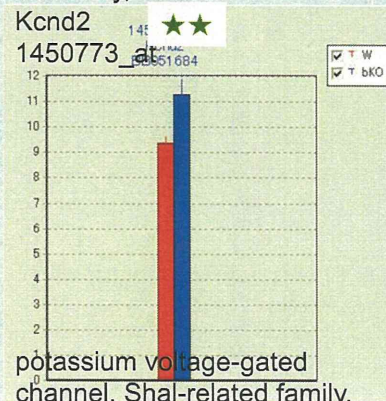
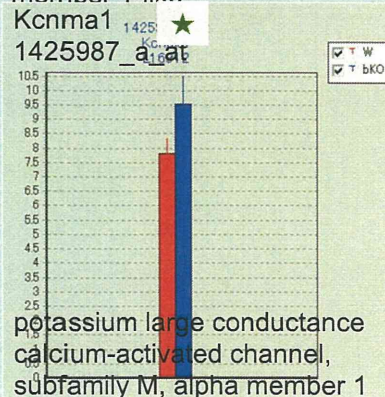
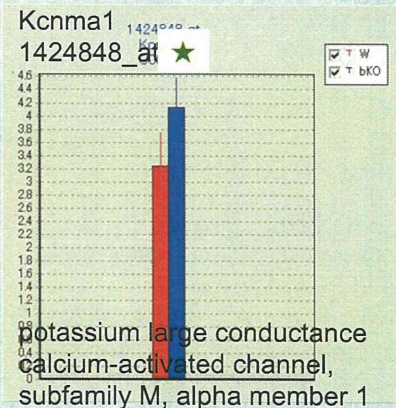
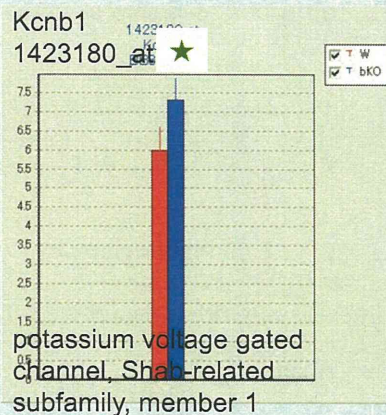
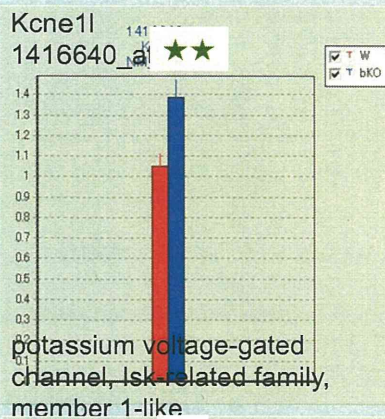
減少する遺伝子: Esr2 (ER β)とSstr1遺伝子。現時点では有害事象と関連するシグナルネットワークは認められない。

→ER β 欠失マウスの大脳皮質では、神経活動が低下(過分極)、概日リズムが乱れている可能性が示唆された

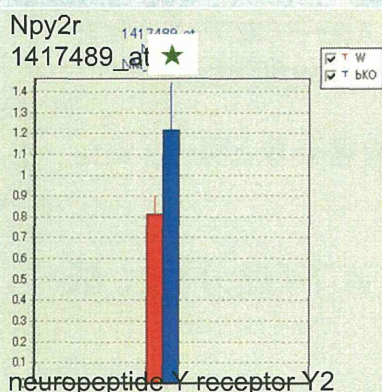
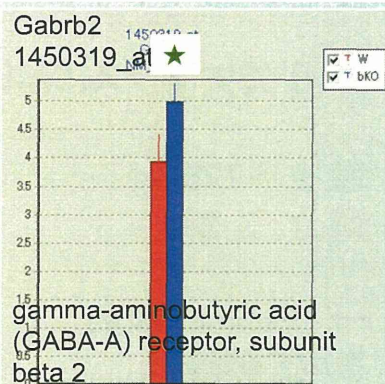
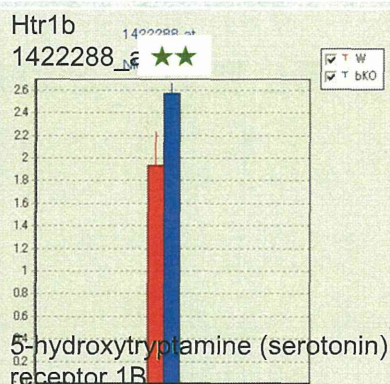
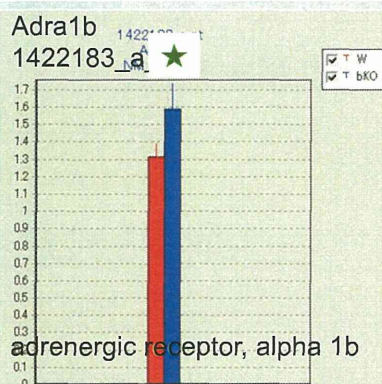
3 /

細胞一個あたりの発現コピー数条件: 1.0コピー以上

大脳皮質:ER β 欠失マウスで有意に発現増加を示すK⁺チャネル関連遺伝子



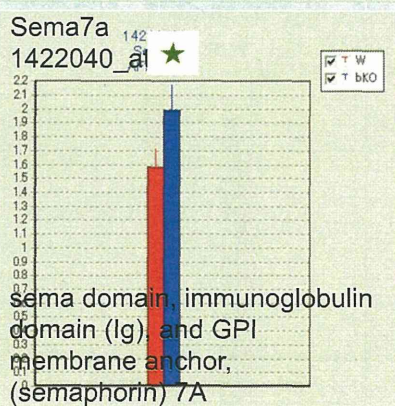
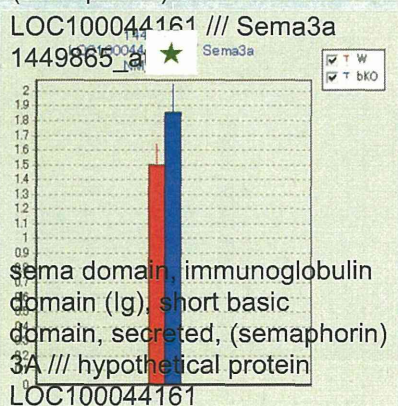
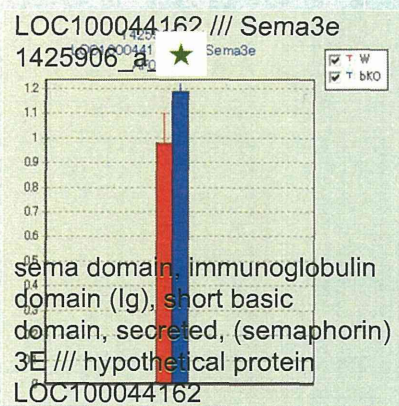
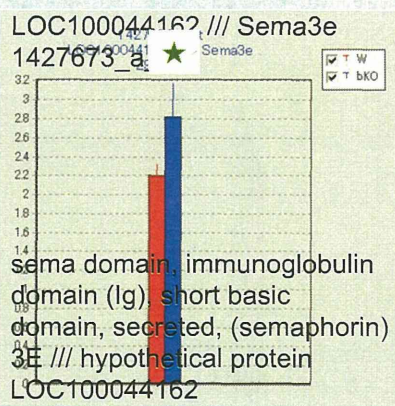
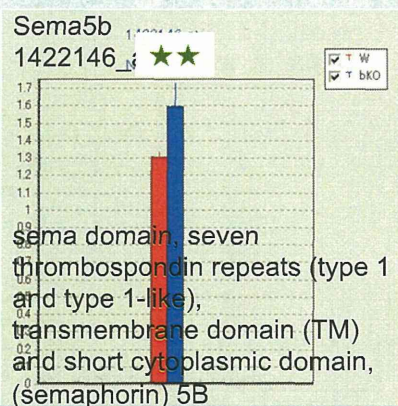
大脳皮質: ER β 欠失マウスで有意に発現増加を示す神経伝達物質受容体遺伝子



赤: 野生型
青: ER β 欠失マウス

39

大脳皮質: ER β 欠失マウスで有意に発現増加を示す軸索ガイダンス因子(セマフォリン)



赤: 野生型
青: ER β 欠失マウス

40