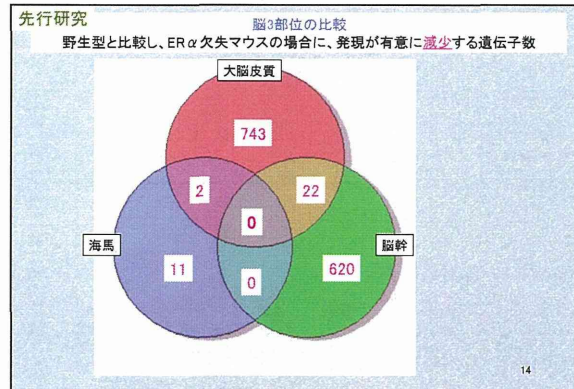
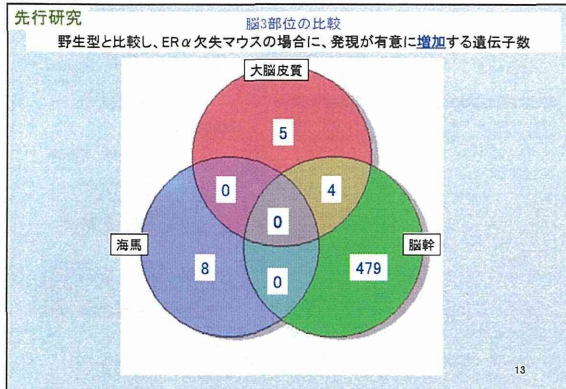




先行研究

野生型とER α 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

15

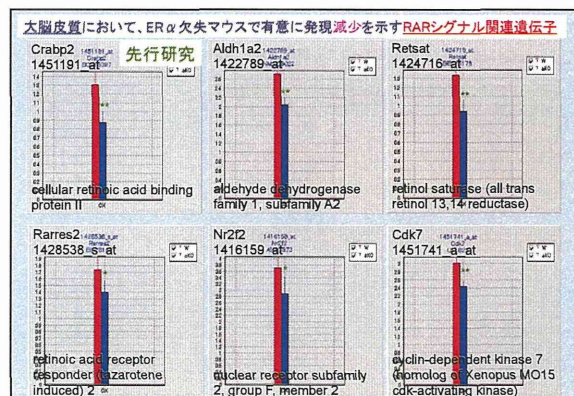
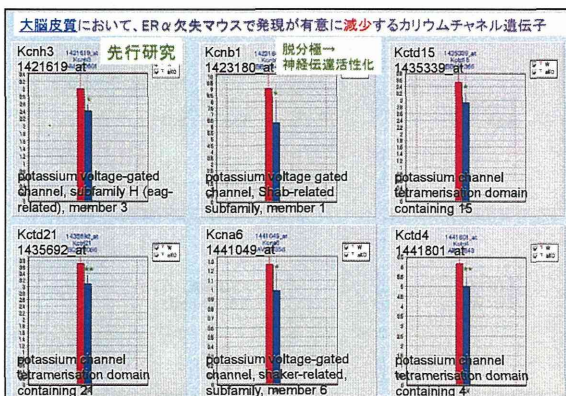
先行研究

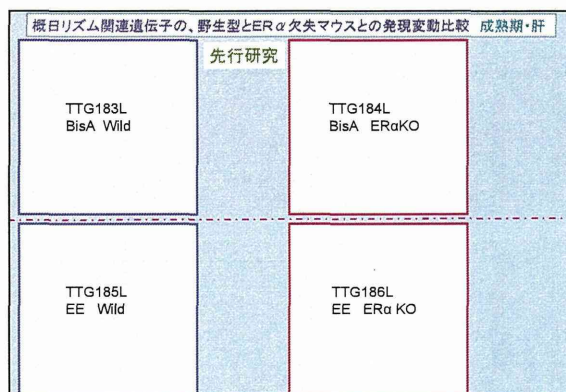
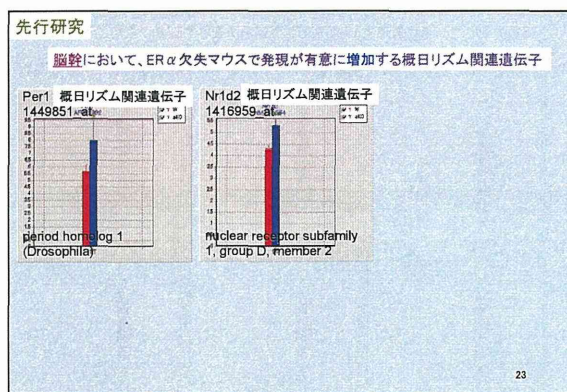
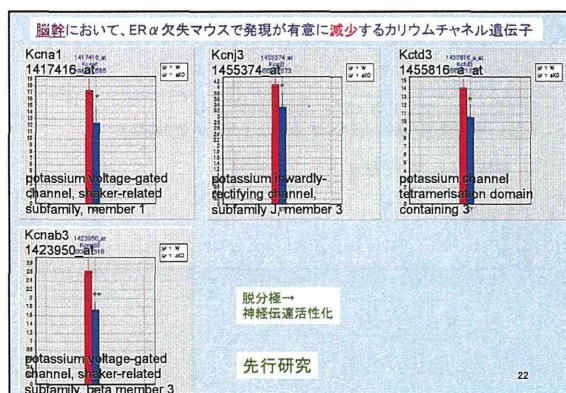
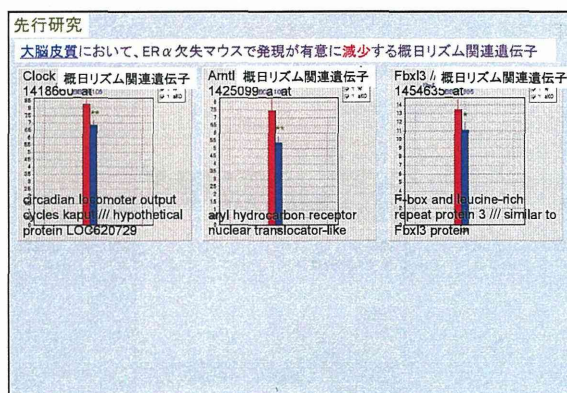
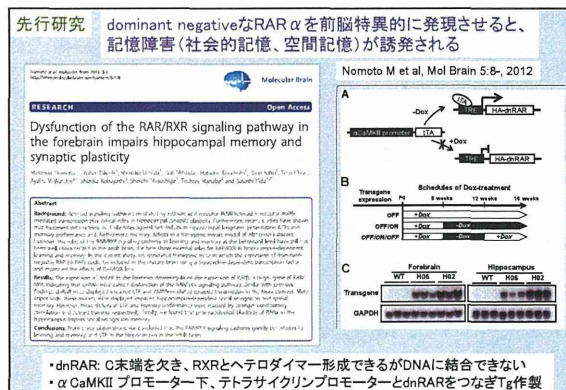
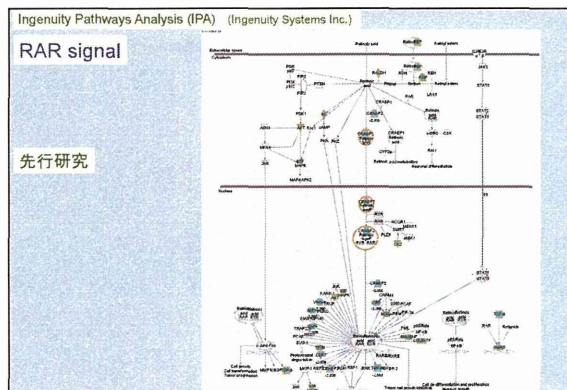
平成24年度

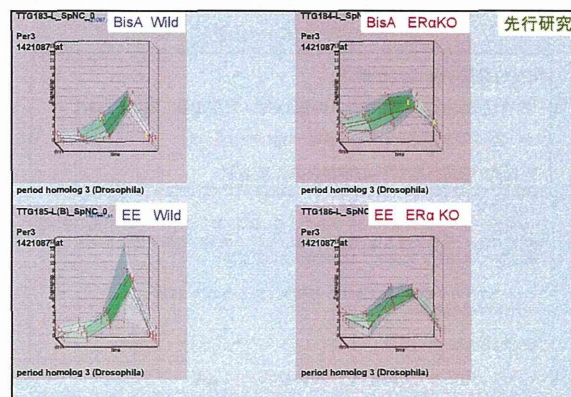
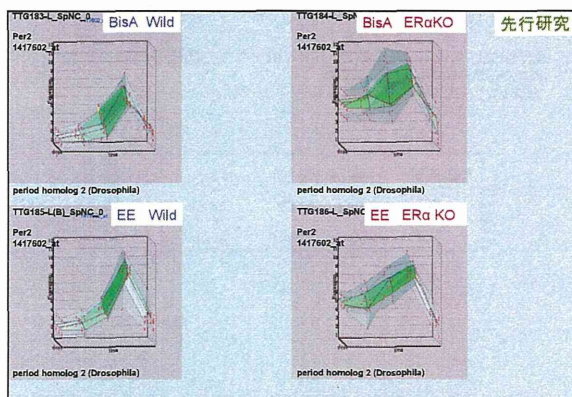
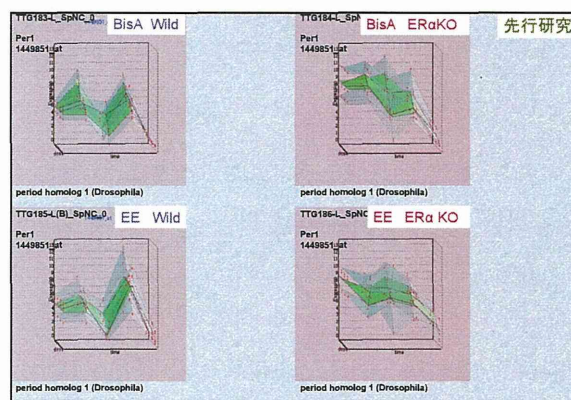
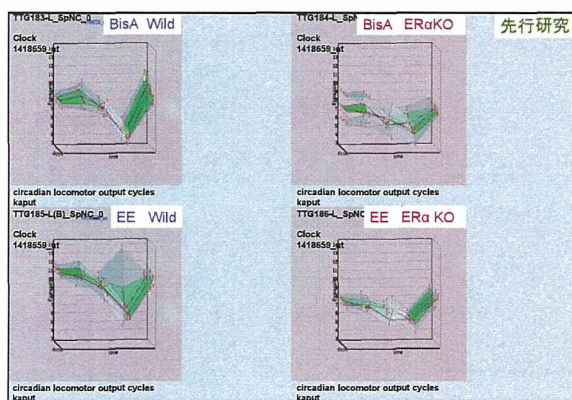
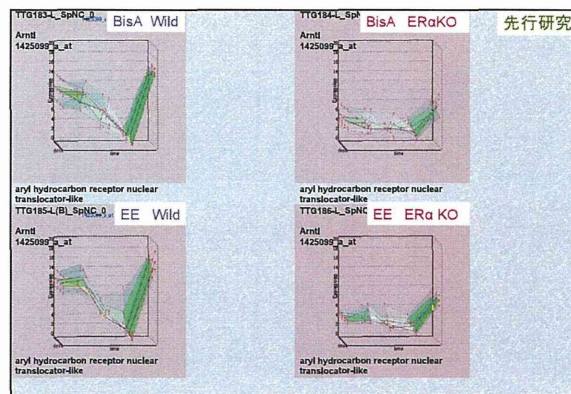
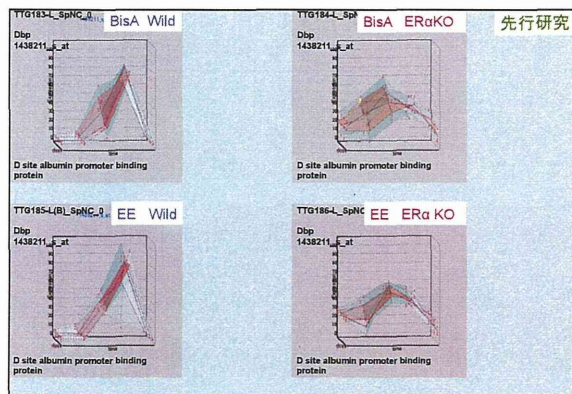
成熟期の雄性ER α 欠失マウスの脳3部位(大脳皮質、海馬、脳幹) ⇔ 野生型

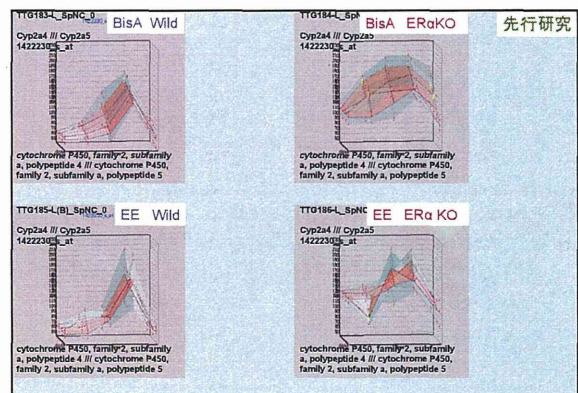
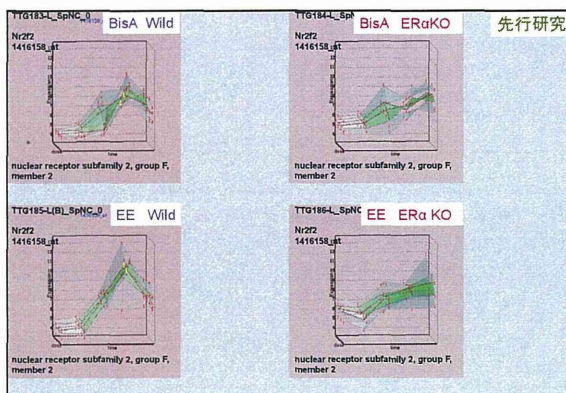
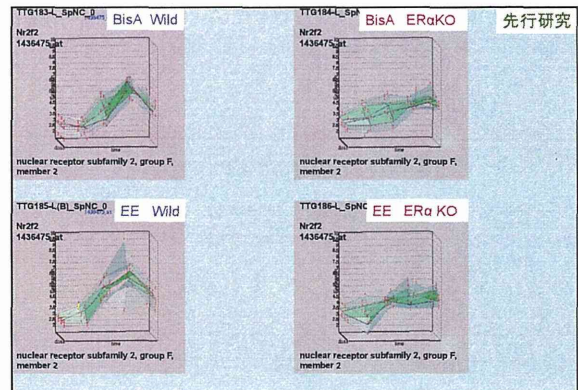
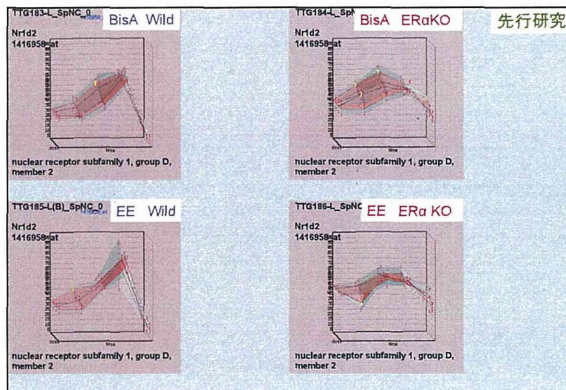
- ・大脳皮質
 - RARシグナル伝達が低下
 - 神経活動の活性化
 - 概日リズムが乱れる
- (RAR関連遺伝子、カルシウムチャネル、グルタミン酸受容体、セロトニン受容体、概日リズム関連遺伝子、アンドロゲン受容体、メチルCpG結合タンパク(MBD)関連遺伝子)
- ・海馬
 - 野生型と変化なし
- ・脳幹
 - 概日リズムが乱れる
 - 神経活動が活性化
- (概日リズム関連遺伝子、セロトニン受容体、カルシウムチャネル、グルタミン酸受容体、GABA受容体、アンドロゲン受容体)

16









平成27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ERαKI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 (採取:午前10時) (各n=4)

⇔ 情動・認知行動解析の結果との比較検討

ERαKIマウス:
ERα遺伝子座に、ERαcDNAと牛成長ホルモン由来の3'-UTRをつなげたものを、相同組換えにより遺伝子導入し、独自に作製したERα受容体遺伝子置換マウス(野生型マウスとERβ欠失マウスは同腹のものを使用)

ERαKIマウスのホモ型におけるERαの発現は野生型の20-25%
→ERαKIマウスは、ERαノックダウンマウス

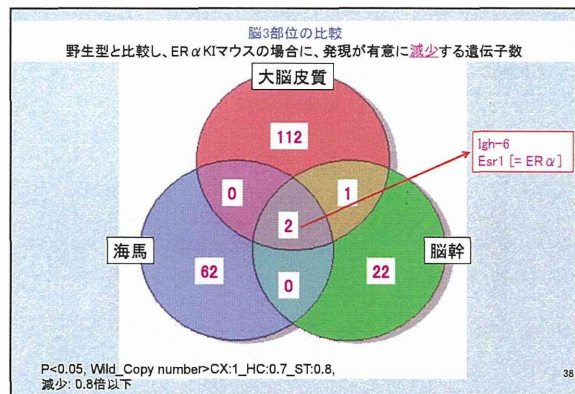
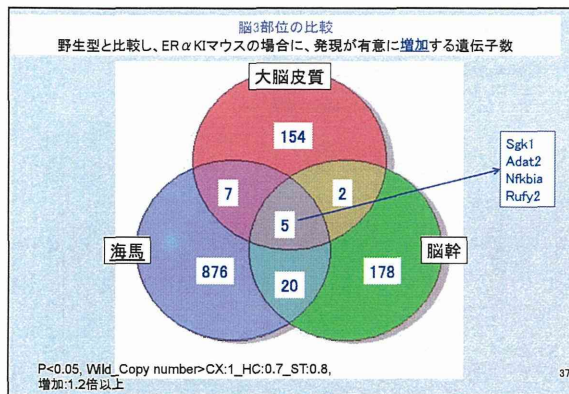
ERαKIマウスは、ERαスプライシングバリエントがつかられない(理論上)

ERαKIマウスは、音-連想記憶及び空間-連想記憶に障害

・脳3部位における、野生型及びERαKIマウスの遺伝子発現の比較
細胞一箇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:	168 ps (増加)	115 ps (減少)
海馬:	908 ps (増加)	64 ps (減少)
脳幹:	205 ps (増加)	25 ps (減少)

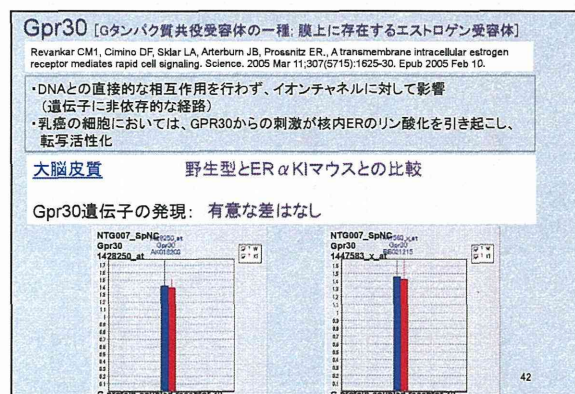
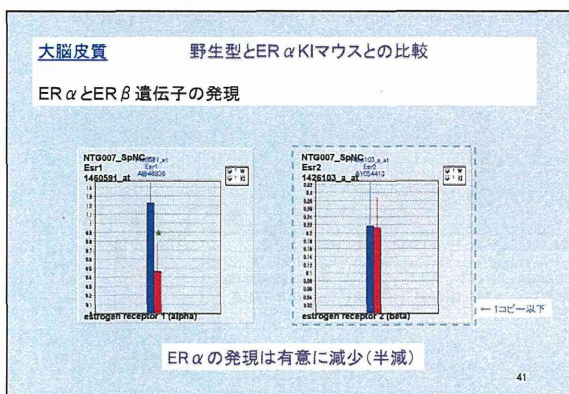
増加>1.200; 減少<0.833

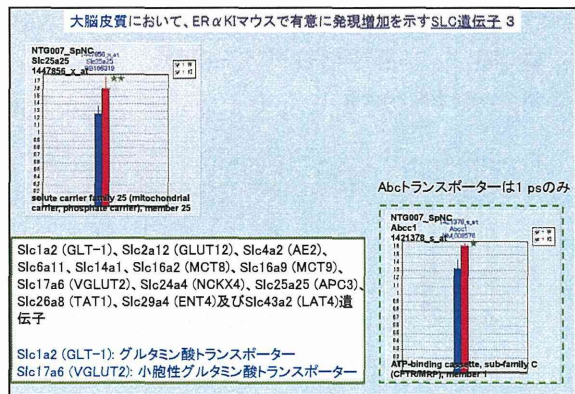
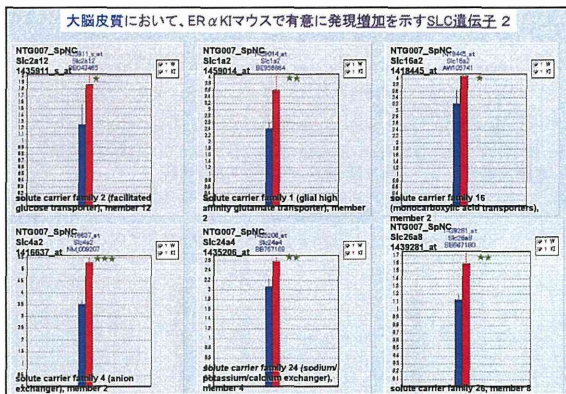
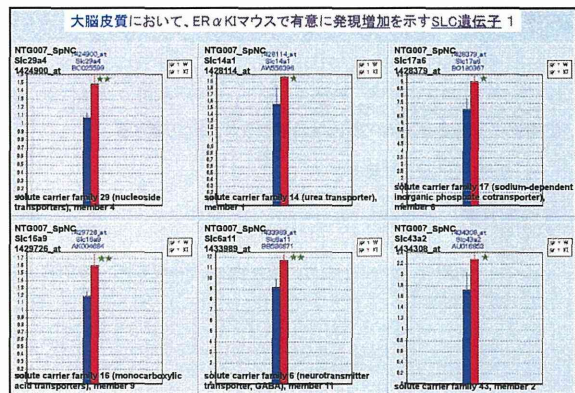
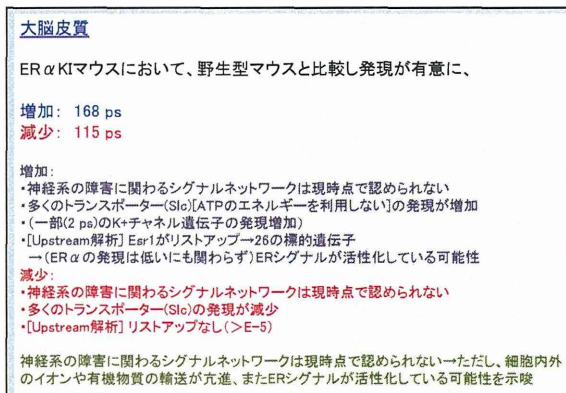
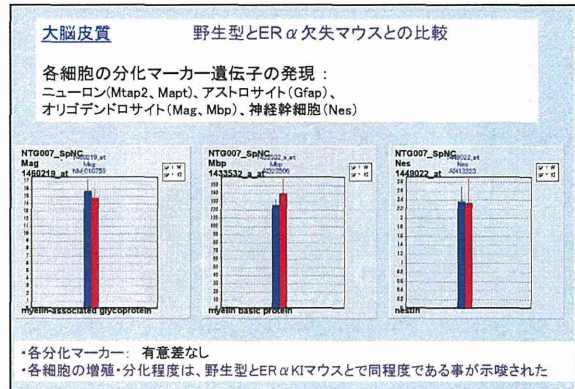
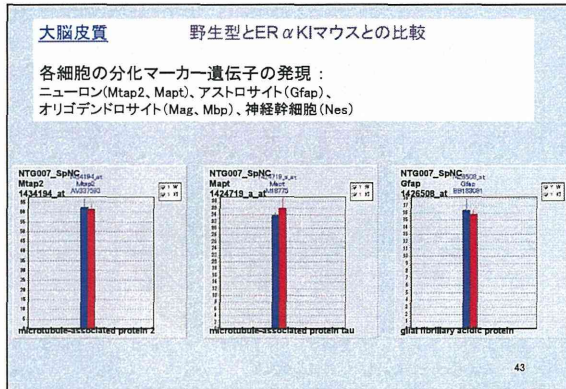


野生型とER α KIマウス間で、脳の部位により、
有意に発現変動(増加・減少)する遺伝子が、かなり異なる
→ 部位ごとに分けて解析

- ・大脳皮質
- ・海馬
- ・脳幹

野生型とER α KIマウスとの比較
大脳皮質

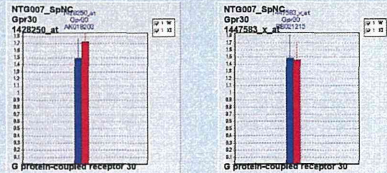




Gpr30 [Gタンパク質共役受容体の一種: 膜上に存在するエストロゲン受容体]

海馬 野生型とERα KIマウスとの比較

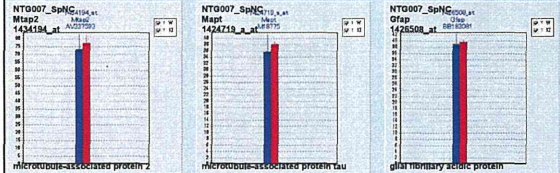
Gpr30遺伝子の発現: 有意な差はなし



55

海馬 野生型とERα KI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)



56

海馬 野生型とERα KI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)



- ・各分化マーカー: 有意差なし
- ・各細胞の増殖・分化程度は、野生型とERα KIマウスとで同程度である事が示唆された

海馬 野生型とERα KIマウスとの比較

ERα KI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: 908 ps

減少: 64 ps

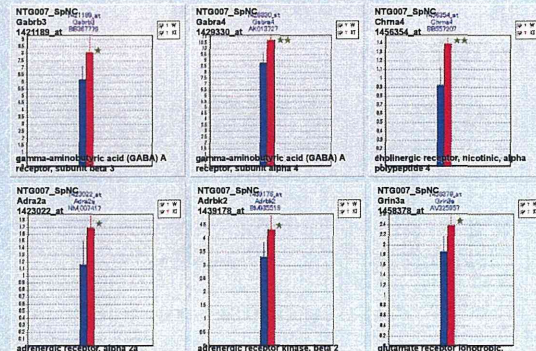
増加:

- ・GABA、アセチルコリン、グルタミン酸、アドレナリン受容体の発現増加(興奮性・抑制性双方の神経伝達亢進を示唆)
- ・K⁺チャネル遺伝子の発現増加(過分極を示唆)とCa²⁺チャネル遺伝子の発現増加(脱分極を示唆)
- ・多くのトランスポーター(Slc)[ATPのエネルギーを利用しない]の発現が増加
- ・[Upstream解析] Esr1がリストアップ-77の標的遺伝子
→(ERαの発現は低いにも関わらず)ERシグナルが活性化している可能性
- ・[Upstream解析] Creb1がリストアップ-41の標的遺伝子
→神経伝達亢進の結果、記憶形成に関わるCreb1が活性化している可能性

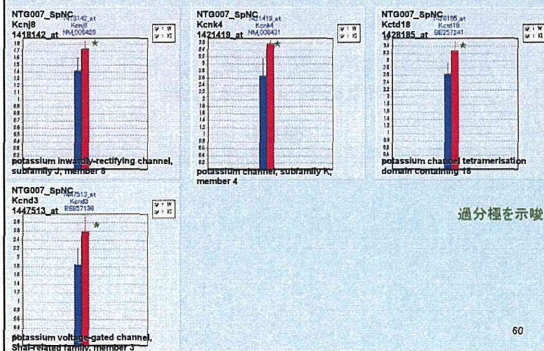
減少:

- ・神経系の障害に関わるネットワークは現時点で認められない
- ・[Upstream解析] リストアップなし(>E-5)
- 興奮性・抑制性双方の神経伝達亢進、細胞内外のイオンや有機物質の輸送が亢進、またERシグナルが活性化している可能性を示唆

海馬: ERα KI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

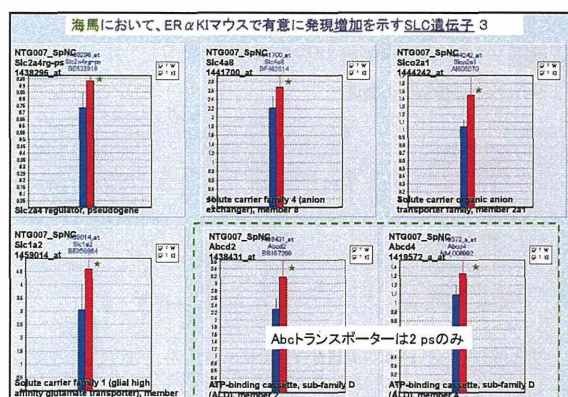
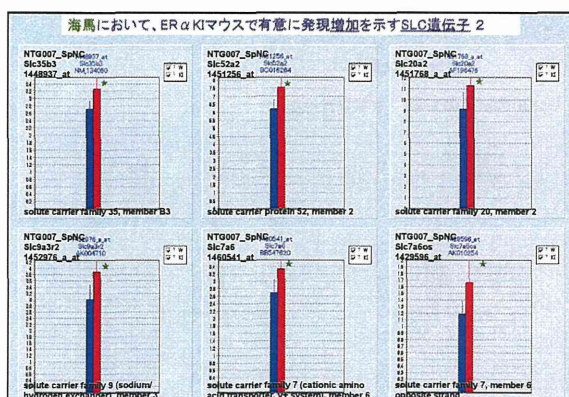
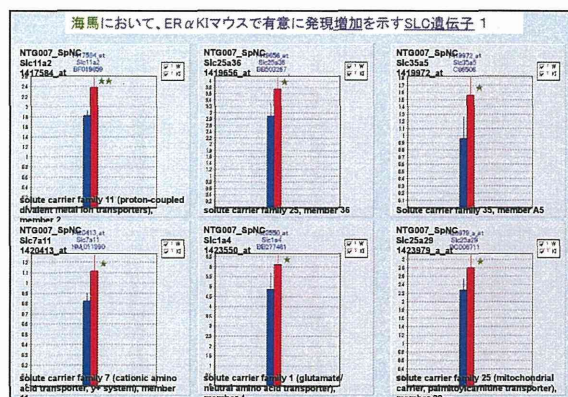
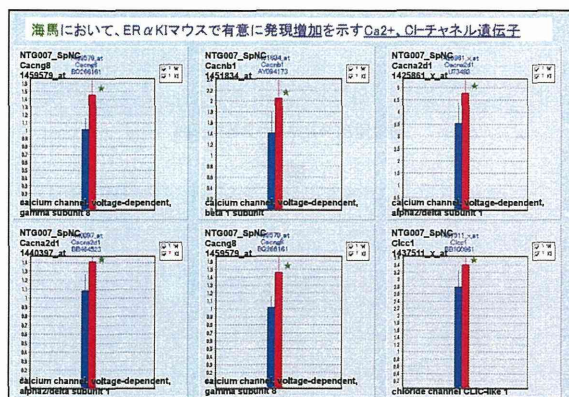


海馬において、ERα KIマウスで有意に発現増加を示すK⁺チャネル遺伝子



過分極を示唆

60



Abcトランスポーターは2 psのみ

用 煤

Upstream解析 (IPA)

Esr1がリストアップ(トップ)

© 2006-2016 CIAGEN. All rights reserved.			p-value of 5 Target molecules in dataset		Mechanism
Upstream 1	Exp Fold	C. Molecule 1, Predicted 2 Activation 2 Notes			
1 (ESR1)	ligand-ecod	0.076	6.12E-07	ABHD5, ADAMTS1, ADAMTS1R, AHR, ATG13, AVP, BCL6, BIMP2, CASK, ITGB3, T3	
2 (CREB1)	transcription	0.373	6.32E-07	AC1, AC10L1, ADP1, ADP11, ATR, AVP, BHLHE40, CACNA2D4, CACNA2D5, CACNA2S1, CACNA2T1, CACNA2T2, CACNA2T3, CACNA2T4, CACNA2T5, CACNA2T6, CACNA2T7, CACNA2T8, CACNA2T9, CACNA2T10, CACNA2T11, CACNA2T12, CACNA2T13, CACNA2T14, CACNA2T15, CACNA2T16, CACNA2T17, CACNA2T18, CACNA2T19, CACNA2T20, CACNA2T21, CACNA2T22, CACNA2T23, CACNA2T24, CACNA2T25, CACNA2T26, CACNA2T27, CACNA2T28, CACNA2T29, CACNA2T30, CACNA2T31, CACNA2T32, CACNA2T33, CACNA2T34, CACNA2T35, CACNA2T36, CACNA2T37, CACNA2T38, CACNA2T39, CACNA2T40, CACNA2T41, CACNA2T42, CACNA2T43, CACNA2T44, CACNA2T45, CACNA2T46, CACNA2T47, CACNA2T48, CACNA2T49, CACNA2T50, CACNA2T51, CACNA2T52, CACNA2T53, CACNA2T54, CACNA2T55, CACNA2T56, CACNA2T57, CACNA2T58, CACNA2T59, CACNA2T60, CACNA2T61, CACNA2T62, CACNA2T63, CACNA2T64, CACNA2T65, CACNA2T66, CACNA2T67, CACNA2T68, CACNA2T69, CACNA2T70, CACNA2T71, CACNA2T72, CACNA2T73, CACNA2T74, CACNA2T75, CACNA2T76, CACNA2T77, CACNA2T78, CACNA2T79, CACNA2T80, CACNA2T81, CACNA2T82, CACNA2T83, CACNA2T84, CACNA2T85, CACNA2T86, CACNA2T87, CACNA2T88, CACNA2T89, CACNA2T90, CACNA2T91, CACNA2T92, CACNA2T93, CACNA2T94, CACNA2T95, CACNA2T96, CACNA2T97, CACNA2T98, CACNA2T99, CACNA2T100, CACNA2T101, CACNA2T102, CACNA2T103, CACNA2T104, CACNA2T105, CACNA2T106, CACNA2T107, CACNA2T108, CACNA2T109, CACNA2T110, CACNA2T111, CACNA2T112, CACNA2T113, CACNA2T114, CACNA2T115, CACNA2T116, CACNA2T117, CACNA2T118, CACNA2T119, CACNA2T120, CACNA2T121, CACNA2T122, CACNA2T123, CACNA2T124, CACNA2T125, CACNA2T126, CACNA2T127, CACNA2T128, CACNA2T129, CACNA2T130, CACNA2T131, CACNA2T132, CACNA2T133, CACNA2T134, CACNA2T135, CACNA2T136, CACNA2T137, CACNA2T138, CACNA2T139, CACNA2T140, CACNA2T141, CACNA2T142, CACNA2T143, CACNA2T144, CACNA2T145, CACNA2T146, CACNA2T147, CACNA2T148, CACNA2T149, CACNA2T150, CACNA2T151, CACNA2T152, CACNA2T153, CACNA2T154, CACNA2T155, CACNA2T156, CACNA2T157, CACNA2T158, CACNA2T159, CACNA2T160, CACNA2T161, CACNA2T162, CACNA2T163, CACNA2T164, CACNA2T165, CACNA2T166, CACNA2T167, CACNA2T168, CACNA2T169, CACNA2T170, CACNA2T171, CACNA2T172, CACNA2T173, CACNA2T174, CACNA2T175, CACNA2T176, CACNA2T177, CACNA2T178, CACNA2T179, CACNA2T180, CACNA2T181, CACNA2T182, CACNA2T183, CACNA2T184, CACNA2T185, CACNA2T186, CACNA2T187, CACNA2T188, CACNA2T189, CACNA2T190, CACNA2T191, CACNA2T192, CACNA2T193, CACNA2T194, CACNA2T195, CACNA2T196, CACNA2T197, CACNA2T198, CACNA2T199, CACNA2T200, CACNA2T201, CACNA2T202, CACNA2T203, CACNA2T204, CACNA2T205, CACNA2T206, CACNA2T207, CACNA2T208, CACNA2T209, CACNA2T210, CACNA2T211, CACNA2T212, CACNA2T213, CACNA2T214, CACNA2T215, CACNA2T216, CACNA2T217, CACNA2T218, CACNA2T219, CACNA2T220, CACNA2T221, CACNA2T222, CACNA2T223, CACNA2T224, CACNA2T225, CACNA2T226, CACNA2T227, CACNA2T228, CACNA2T229, CACNA2T230, CACNA2T231, CACNA2T232, CACNA2T233, CACNA2T234, CACNA2T235, CACNA2T236, CACNA2T237, CACNA2T238, CACNA2T239, CACNA2T240, CACNA2T241, CACNA2T242, CACNA2T243, CACNA2T244, CACNA2T245, CACNA2T246, CACNA2T247, CACNA2T248, CACNA2T249, CACNA2T250, CACNA2T251, CACNA2T252, CACNA2T253, CACNA2T254, CACNA2T255, CACNA2T256, CACNA2T257, CACNA2T258, CACNA2T259, CACNA2T260, CACNA2T261, CACNA2T262, CACNA2T263, CACNA2T264, CACNA2T265, CACNA2T266, CACNA2T267, CACNA2T268, CACNA2T269, CACNA2T270, CACNA2T271, CACNA2T272, CACNA2T273, CACNA2T274, CACNA2T275, CACNA2T276, CACNA2T277, CACNA2T278, CACNA2T279, CACNA2T280, CACNA2T281, CACNA2T282, CACNA2T283, CACNA2T284, CACNA2T285, CACNA2T286, CACNA2T287, CACNA2T288, CACNA2T289, CACNA2T290, CACNA2T291, CACNA2T292, CACNA2T293, CACNA2T294, CACNA2T295, CACNA2T296, CACNA2T297, CACNA2T298, CACNA2T299, CACNA2T300, CACNA2T301, CACNA2T302, CACNA2T303, CACNA2T304, CACNA2T305, CACNA2T306, CACNA2T307, CACNA2T308, CACNA2T309, CACNA2T310, CACNA2T311, CACNA2T312, CACNA2T313, CACNA2T314, CACNA2T315, CACNA2T316, CACNA2T317, CACNA2T318, CACNA2T319, CACNA2T320, CACNA2T321, CACNA2T322, CACNA2T323, CACNA2T324, CACNA2T325, CACNA2T326, CACNA2T327, CACNA2T328, CACNA2T329, CACNA2T330, CACNA2T331, CACNA2T332, CACNA2T333, CACNA2T334, CACNA2T335, CACNA2T336, CACNA2T337, CACNA2T338, CACNA2T339, CACNA2T340, CACNA2T341, CACNA2T342, CACNA2T343, CACNA2T344, CACNA2T345, CACNA2T346, CACNA2T347, CACNA2T348, CACNA2T349, CACNA2T350, CACNA2T351, CACNA2T352, CACNA2T353, CACNA2T354, CACNA2T355, CACNA2T356, CACNA2T357, CACNA2T358, CACNA2T359, CACNA2T360, CACNA2T361, CACNA2T362, CACNA2T363, CACNA2T364, CACNA2T365, CACNA2T366, CACNA2T367, CACNA2T368, CACNA2T369, CACNA2T370, CACNA2T371, CACNA2T372, CACNA2T373, CACNA2T374, CACNA2T375, CACNA2T376, CACNA2T377, CACNA2T378, CACNA2T379, CACNA2T380, CACNA2T381, CACNA2T382, CACNA2T383, CACNA2T384, CACNA2T385, CACNA2T386, CACNA2T387, CACNA2T388, CACNA2T389, CACNA2T390, CACNA2T391, CACNA2T392, CACNA2T393, CACNA2T394, CACNA2T395, CACNA2T396, CACNA2T397, CACNA2T398, CACNA2T399, CACNA2T400, CACNA2T401, CACNA2T402, CACNA2T403, CACNA2T404, CACNA2T405, CACNA2T406, CACNA2T407, CACNA2T408, CACNA2T409, CACNA2T410, CACNA2T411, CACNA2T412, CACNA2T413, CACNA2T414, CACNA2T415, CACNA2T416, CACNA2T417, CACNA2T418, CACNA2T419, CACNA2T420, CACNA2T421, CACNA2T422, CACNA2T423, CACNA2T424, CACNA2T425, CACNA2T426, CACNA2T427, CACNA2T428, CACNA2T429,	

→発現増加した908 psの中に、77のER α の標的遺伝子が含まれていた
→ER α キマウスの海馬ではERシグナルが活性化している可能性

ABHD, ANAPC5, AP3B1, AR, ATG13, AVPBC16, BMP2, CASP8AP2, CBL, CDC42
BP2, CENP5, CRIM1, DIT1, DUSP8, DYRK2, FGF12, GADD45A, GNAO, GOPC, G
YGI, HOOK2, HSD17B17, INY, JAK1, JAK3, KIF3B, KIF5L, KIF24, KPNB1, LAPTM5,
MADD, MARK1, MDM4, MYO6, NFKBIA, NFYB, NIPSNAP1, NOV, NRAC, ONECUT
2, OPN1H1, PCBD1, PCDBA8, PKD4, PLML5, PIAS1, PLCB1, PLXNA1, PPR13C, P
PP5C, PTEN, PTK2, RAB27A, RABEP1, RELB, ROBO1, ROCK2, RP2, SESN1, SGK1
SKP2, SLC14A1, SLC25A32, SLC7A11, SPRY4, STAR, STX6, SUFU, TAX1BP1, TER
E2, TERC, THRAP2, TJP2, TSC2D3, VF2, VF5F2, YPFI.1

海馬

Upstream解析 (IPA)

Creb1がリストアップ

Upstream F-Box Fold C-Molecule T: Predicted Δ Activation / Notes	p-value of C Target molecules in dataset	Mechanism
1 TESST1 ligand-fold	0.016	1:626-07
2 HES6 transcriptor	0.078	1:626-07
3 HES6 transcriptor	0.078	1:626-07
4 C-terminal Activated	0.153	1:626-07
5 BHLH growth factor	1.775	2:982-05
6 HES6 transcriptor	0.213	1:626-07

→発現増加した908 psの中に、41のCreb1の標的遺伝子が含まれていた
→ERαKIマウスの海馬では神経伝達亢進の結果、記憶形成に関わる

Creb1が活性化する可能性

(Ca²⁺/cAMP-PKA-CREB系において遺伝子転写を促進する機能)

AKT3, APOLD1, AQP11, ATF1, AVP, BHLHE40, CACNA2D1, CAMKK2, CAPN5, Ccnj1, CDH8, CDK14, CIART, CRIM1, ERRF1, FAM46A, FLT1, GADD45B, GADD45G, GPR12, HLA-A, HOMER1, ITGBL1, KLF7, MARCKS1B, MCL1, MDGA1, NPTX2, NRP1, PLXNA2, RBMX, ROBO1, SEMA4A, SGK1, SH3KBP1, STAR, TERC, TH, THOP1, YPEL1, Zfp948

