

# 平成27年度 学内研究助成金 研究報告書

研究種目	■奨励研究助成金	□研究成果刊行助成金
	□21世紀研究開発奨励金 (共同研究助成金)	□21世紀教育開発奨励金 (教育推進研究助成金)
研究課題名	St8sia2ノックアウトマウスにおけるフランキング領域が水頭症に及ぼす影響	
研究者所属・氏名	研究代表者：医学部 助教 池上 啓介 共同研究者：医学部 教授 重吉 康史	

## 1. 研究目的・内容

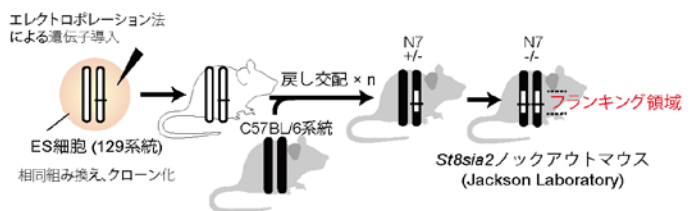
糖鎖修飾酵素のシアル酸転移酵素(ST8sia2)は主にNCAMのポリシアル酸合成に関与しており、ポリシアル酸は脳の発生や発達、情動、概日リズムなど様々な働きを持っている。従来のKOマウスの表現型はマイルドであったが、申請者が遺伝的背景を純化させていくと水頭症と胚性致死を示すようになった。本研究では多型解析を組み合わせてQTL解析をし、各発症メカニズムに関わる領域と遺伝子を同定し、St8sia2と関連した発症メカニズムを解明することを目的とする。

## 2. 研究経過及び成果

既存のSt8sia2KOマウスの多型解析を行ったところ、大半はB6系統だったが129由来の遺伝子座が一部残っていた。水頭症の原因遺伝子がB6系統由来であることを証明するため、水頭症を発症する世代を129系統雌マウスと交配させ、産まれたヘテロ同士の交配により発症頻度が改善されるかのレスキュー実験を行った。その結果、発症率が改善されたのでB6由来のフランキング領域がSt8sia2遺伝子変異の効果を増幅させている可能性が示唆された。また、臨床の現場では、水頭症患者には歩行障害が確認されるため、マウスでも患者のように歩幅が狭くなり、両脚の間隔が広がるかを脚に墨汁を付けて歩行解析した。その結果、歩幅がせまくなり、両脚の間隔が広く、直進しづらくなっていることが判明した。また赤外線センサーを用いて行動量や行動リズムを測定したところ、水頭症を発症するとその進行度合い比例して行動量が減少することが判明し、夜行性にも関わらず流行性で行動するようになる個体も観察できた。これらの表現型の変化は、症状の診断マーカーとして有用である可能性を示唆している。

レスキューした世代マウスを用いてマイクロサテライトマーカーとSNPマーカーを用いた多型解析と胚性致死や水頭症の発症表現型を組み合わせる量的形質遺伝子座(QTL)解析を実施した。その結果、胚性致死に関しては*Symn*、*Igf1r*、*Pgpep1f*遺伝子が候補に挙がり、胚性致死を示すE14の前のE10-11でサンプリングをしげのタイピングで分けたのちにqPCRにより遺伝子発現解析を行ったところ、*Igf1r*(IGF1受容体遺伝子)がB6系統で発現が低いことを明らかにした。*Igf1r*プロモーターのメチル化がB6系統で増加していたため、B6はプロモーターのメチル化により*Igf1r*遺伝子発現が抑制されている可能性を示唆した。IGF1RのアンタゴニストであるPPPの妊娠10日目メスマウス(St8sia2KO、*Igf1r*:129 type、産仔数正常)への腹腔内投与により産仔数がわずかではあるが有意に減少し、胚性致死を示す雌マウスへIGF1を投与すると産仔数が有意に回復したことから、胚性致死においては*Igf1r*が関係していることがしきさできた(論文投稿準備中)。

また水頭症における形態的变化をしらべたところ、脳髄液を産生する脈絡叢やほかの水頭症モデルマウスにおける損傷部位などにおいても特徴的な変異を確認することができなかった。水頭症マウスに関しては現在も解析中であるが10cMまで絞り込んでいる。また、脳内の細胞内シグナル伝達経路の活性化をスライド抗体アレイを用い解析したところ、*Igf1r*の活性化の変動は確認できなかったが、*Erk1/2*と*Scr*のリン酸化が水頭症マウスで減少していた。現在そのメカニズムを解析中である。



### 3. 本研究と関連した今後の研究計画

水頭症マウスに関しては現在も解析中であるが10cMまで絞り込んでいるので、今後はさらにQTL解析で絞り込み遺伝子発現解析なども組み合わせて同定する予定である。また、脳内の細胞内シグナル伝達経路の活性化をスライド抗体アレイを用い解析したところ、Erk1/2とScrのリン酸化が水頭症マウスで減少していたのでその上流の変動を探索する予定である。また水頭症で細胞死がどこで起こっているかは未だ明確にはできていないので、詳細を今後明らかにする予定である。

### 4. 成果の発表等

発表機関名	種類（著書・雑誌・口頭）	発表年月日(予定を含む)