

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 3 月 31 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010 ～ 2012

課題番号：22590232

 研究課題名（和文）糖鎖転移酵素遺伝子群と視交叉上核における概日リズム発現変動について  
 研究課題名（英文）The glycosyltransferase gene cluster associated with the circadian rhythm expression change in the suprachiasmatic nucleus

研究代表者

西郷 和真

（SAIGOH KAZUMASA）

近畿大学・医学部・講師

研究者番号：50319688

研究成果の概要（和文）：

我々記述のようにシアル酸転移酵素ST8SiaVI 遺伝子の発現が視交叉上核SCN、海馬HC に特異的かつ限局的に発現しており糖鎖関連遺伝子のST8SiaVI遺伝子が概日リズムと関連していることは明暗条件（Z T）で飼育したマウスで、遺伝子発現に周期性があることを発見した。さらに、恒暗条件下で飼育したマウスでのST8SiaVI遺伝子が概日リズムと関連していることは不明であったため、その結果を得るために、恒暗条件下（C T）で飼育したマウスのST8SiaVI遺伝子発現の解析を行い、Z T条件下と同様に概日リズムと関連していることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

Polysialic acids are implicated in various biological processes such as neural cell migration, axonal growth, synaptogenesis and resetting of the circadian rhythm. Recently, polysialation has been reported to be involved in the formation and resetting of the circadian clock. However, the genes that control the circadian rhythm of polysialation have not been elucidated. In the present study, we investigated the expression profile of ST8 alpha-N-acetylneuraminidase alpha-2,8-sialyltransferase 6 (ST8Sia VI) in the suprachiasmatic nucleus (SCN), which is one of the modification transferases that add sialic acids to type O carbohydrate chains. ST8Sia VI mRNA showed strong expression in the SCN with dynamic circadian rhythm. Further, the amount of ST8Sia VI mRNA in the SCN was increased by brief light exposure. Interestingly, the localization of ST8Sia VI mRNA in the SCN differs from those of arginine vasopressin and vasoactive intestinal peptide mRNAs, which are typical SCN subregion markers showing shell and core, dorsomedial and ventrolateral, or light-responsive and unresponsive regions, respectively. The present findings suggest that ST8SiaVI is involved in rhythmic polysialation in the SCN and that ST8SiaVI expression provides a novel compartmentation of the mammalian circadian center.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・環境生理学（含体力医学・栄養生理学）

キーワード：睡眠・覚醒、睡眠障害、概日リズム、糖鎖遺伝子

### 1. 研究開始当初の背景

従来から糖脂質や糖タンパク質などの複合糖質は、細胞膜表面に存在する分子であり、細胞間相互作用や細胞認識に重要な役割を果たすと考えられているが、詳細は不明な点が多い。中でもシアル酸を含むガングリオシドなどの糖脂質は、糖鎖構造に基づいて多くの分子種が知られており、分子種ごとに神経系内でユニークな局在を呈している。最近 **Guillain-Barré** 症候群などの免疫性末梢神経障害で、糖脂質がしばしば抗体の標的分子となることがわかり、注目されている (楠らの報告)。

一方生物時計研究の研究も近年急速に発展し、時計関連遺伝子と総称される一連の遺伝子群が次々と同定され、転写翻訳のフィードバック機能がリズム発振に関与することが示されている。しかし今までに糖鎖関連遺伝子と生体リズムとの報告は少なく、糖鎖と概日リズムの関連について、その関連を明らかにしようとする本研究は、非常に独創的なものであると考えられた。

### 2. 研究の目的

今回、我々研究代表者らはシアル酸糖転移酵素の一種であるマウス  $\alpha$ -2,8-sialyltransferase8F (以下 **ST8SiaVI**) 遺伝子のクローニングとその視交叉上核の局在および発現周期についての解明に成功した。もともと **ST8SiaVI** 遺伝子はシアル酸を付加する糖鎖修飾転移酵素の一群で、セリン/スレオニンに結合した糖鎖[ムチン型 (O型)糖鎖]構造を合成すると考えられている。第一に行った **ST8SiaVI** 遺伝子のクローニングは、マウス脳内における視交叉上核(以下 **SCN**)に周期的に発現している遺伝子を網羅的に単離 (重吉らの報告) した中より **ST8SiaVI** 遺伝子に注目した。糖鎖と概日リズムの関連については、現在までに殆ど報告が無く、その関連を明らかにしようとする本研究は非常に独創的なものである。さらにファミリー遺伝子の **ST8Sia II/STX** 遺伝子も **SCN** で振動している可能性を **GeneChip** で見出した。特に **ST8Sia II/STX** 遺伝子は少数例で、その遺伝子多型と統合失調症との関連が示唆されている。本研究のシアル酸転移酵素遺伝子の解析は、ヒトのサーカディアンリズムや睡眠覚醒リズムとの関連、さらにはヒト睡眠位相障害、統合失調、躁うつ病の原因解明や治療法開発へとつながる可能性、将来性のある研究である。

### 3. 研究の方法

本研究ではシアル酸転移酵素 **ST8SiaVI** 遺伝子

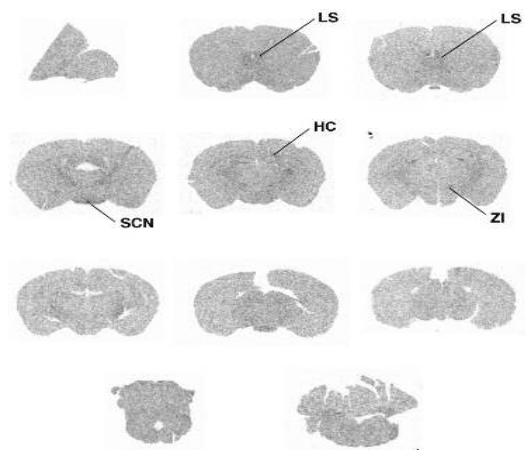
とそのファミリー遺伝子 **ST8Sia II/STX** 遺伝子の網羅的解析を行う。1) *in vitro* での遺伝子導入、遺伝子抑制、翻訳後修飾系実験 2) *in vivo* での遺伝子導入、遺伝子抑制、モデル動物の組織、行動解析系実験 3) ヒト神経精神疾患 (睡眠位相障害、統合失調症、躁うつ病、神経変性疾患) と **ST8SiaVI** 遺伝子および **ST8Sia II/STX** 遺伝子多型

(polymorphism, SNP) の関連解析、変異解析の以上の 1) -3) 3段階により糖鎖修飾転移酵素の機能解析を行なった。

### 4. 研究成果

今回、我々研究代表者らはシアル酸糖転移酵素の一種であるマウス  $\alpha$ -2,8-sialyltransferase8F (**ST8SiaVI**) 遺伝子のクローニングとその視交叉上核の局在および発現周期についての解明に成功した。もともと **ST8SiaVI** 遺伝子はシアル酸を付加する糖鎖修飾転移酵素の一群で、セリン/スレオニンに結合した糖鎖[ムチン型 (O型)糖鎖]構造を合成すると考えられている。第一に行った **ST8SiaVI** 遺伝子のクローニングは、マウス脳内における視交叉上核に周期的に発現している遺伝子を網羅的に単離した中より **ST8SiaVI** 遺伝子に注目した。その局在と発現周期についての関連で **ST8SiaVI** 遺伝子の体内時計中枢 **SCN** における発現量、および日周リズム変動を検討することによって、糖鎖修飾転移酵素 **ST8SiaVI** 遺伝子と概日リズムが関連することを見出した。

下図は中枢神経内での遺伝子発現を示す。



LS, lateral septum; SCN, suprachiasmatic nucleus; HC, hippocampus; ZI, zona incerta

発現は一部の神経核、領域に局限し **SCN** に一番強い発現を認めた。さらに海馬 (**HC**) での

強い発現は非常に興味深い。最近になり、睡眠と記憶の関連について相次いで報告されているが、その原因関連遺伝子の1つに ST8SiaVI 遺伝子が関与している可能性が考えられている。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

##### [雑誌論文] (計 4 件)

①.

Circadian expression and specific localization of a sialyltransferase gene in the suprachiasmatic nucleus. Hamada Y, Saigoh K, Masumoto KH, Nagano M, Kusunoki S, Shigeyoshi Y. *Neurosci Lett.* 2013 Feb 22;535:12-7. doi: 10.1016/j.neulet.2012.12.032. 査読有

②.

Differential entrainment of peripheral clocks in the rat by glucocorticoid and feeding. Sujino M, Furukawa K, Koinuma S, Fujioka A, Nagano M, Iigo M, Shigeyoshi Y. *Endocrinology.* 2012 May;153(5):2277-86. doi: 10.1210/en.2011-1794. 査読有

③.

Quantitative expression profile of distinct functional regions in the adult mouse brain. Kasukawa T, Masumoto KH, Nikaido I, Nagano M, Uno KD, Tsujino K, Hanashima C, Shigeyoshi Y, Ueda HR. *PLoS One.* 2011;6(8):e23228. doi: 10.1371/journal.pone.0023228. 査読有

④.

Chondroitin-1,4-N-acetylgalactosaminyltransferase -1 missense mutations are associated with neuropathies. Saigoh K, Izumikawa T, Koike T, Shimizu J, Kitagawa H, Kusunoki S. *J Hum Genet.* 2011 Feb;56(2):143-6. doi: 10.1038/jhg.2010.148. 査読有

##### [学会発表] (計 3 件)

①.

Circadian Expression and Specific Localization of ST8  $\alpha$ -2,8-Sialyltransferase 6 mRNA in Mouse of Suprachiasmatic Nucleus. Kazumasa Saigoh, Yoshiyuki Hamada, Susumu Kusunoki, Masumoto Kohei, Mamoru Nagano, Naoto Hayasaka, Yasufumi Shigeyoshi *Neuroscience* 2012, SfN's 42nd annual meeting, October. 13 -17 in New Orleans

②.

コンドロイチン硫酸糖鎖合成酵素遺伝子の一塩基変異のみられたニューロパチーの検討(会議録) Author: 西郷 和真(近畿大学医学部附属病院神経内科), 泉川 友美, 小池 敏靖, 清水 潤, 北川 裕之, 楠 進 東京  
Source: 臨床神経学(0009-918X)51 巻 12 号

Page1455(2011.12)

③.

運動ニューロン疾患と多巣性運動ニューロパチーとの抗糖脂質抗体における検討(会議録)

Author: 西郷 和真(近畿大学 医学部神経内科), 桑原 基, 塩山 実章, 宮本 勝一, 青松 宏美, 高田 和男, 三井 良之, 楠 進  
Source: 臨床神経学(0009-918X)50 巻 12 号  
Page1084(2010.12)

##### [図書] (計 3 件)

①

感染・炎症性疾患 マイコプラズマ肺炎と神経合併症(解説) Author: 楠 進 Source: Annual Review 神経 2013 巻 Page123-128(2013.01)

②

【体内時計のかたち】時間差を捉える哺乳類体内時計中枢(解説/特集)

Author: 重吉 康史長野 護, 升本 宏平, 鯉沼 聡  
Source: 顕微鏡(1349-0958)47 巻 2 号  
Page74-79(2012.06)

③

脱髄・免疫性疾患 GBS とガングリオシド複合体抗体 最近の知見(解説) Author: 楠 進 Source Annual Review 神経 2011 巻 Page293-299(2011.01)

##### [産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

##### [その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

西郷 和真 ( SAIGOH KAZUMASA )

近畿大学・医学部・講師

研究者番号：50319688

(2) 研究分担者

楠 進 ( KUSUNOKI SUSUMU )

近畿大学・医学部・教授

研究者番号：90195438

研究分担者

重吉 康史 ( SHIGEYOSHI YASUFUMI )

近畿大学・医学部・教授

研究者番号：20275190

研究分担者

早坂 直人 ( HAYASAKA NAOTO )

近畿大学・医学部・講師

研究者番号：80368290

(3) 連携研究者

なし