

課題番号	LS116
------	-------

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成24年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	成体大脳新皮質に存在する新規神経前駆細胞(L1-INP細胞)の培養技術の確立と生理的機能の解明
研究機関・部局・職名	藤田保健衛生大学・総合医科学研究所・講師
氏名	大平 耕司

1. 当該年度の研究目的

<p>本研究では、L1-INP細胞を利用した新しい治療法の実現に向けて、L1-INP細胞のin vitro培養技術の確立、さらにL1-INP細胞から生み出される新生神経細胞の生理的機能を明らかにすることを目指している。</p> <p><<平成24年度目的>></p> <p>(1) 平成23年度から引き続き、L1-INP細胞の遺伝子発現解析を行いL1-INP細胞に特異的に発現している遺伝子の同定を試みる。L1-INP細胞に特異的に発現する遺伝子プロモーターを利用して、GFP、Creリコンビナーゼ、tTAなどを発現するトランスジェニック(Tg)マウスを作出し、マウスの選択を行い目的の系統を得る。</p> <p>(2) これまで生後1ヶ月の大脳新皮質からNeurosphereの形成に成功していたが、前年度に生後2ヶ月の大脳新皮質からわずかではあるがNeurosphereが形成される条件を見出した。さらに、Neurosphereの形成効率を上げるために、L1-INP細胞の培養条件について検討を行う。</p> <p>(3) 抗うつ薬の一つであるフルオキセチンをマウスに長期投与すると、L1-INP細胞の増殖・分化が促進されることが明らかとなった。これまで、虚血でのみL1-INP細胞の増殖・分化が促進されることがわかってきたが、この知見により、薬剤によりL1-INP細胞の増殖・分化を制御することができる可能性を示すことができた。今後は、Fucciマウス等を活用することにより、細胞の増殖・分化を制御することのできる因子(薬剤、学習、環境エンリッチメントなど)を探索すると同時に、増殖した新しい神経細胞の機能についても解析していく。</p> <p>(4) L1-INP細胞より産生された神経細胞が脳内で機能している事を上述のように見出した事で、将来におけるL1-INP細胞のヒトへの応用の可能性がでてきた。そこで、ヒトに近縁な霊長類の脳で、L1-INP細胞が存在するのかどうか確かめる。</p>

2. 研究の実施状況

<p>(1) <u>L1-INP細胞の遺伝子解析</u> L1-INP細胞に特異的に発現している遺伝子の同定に関して、L1-INP細胞にウイルスを感染させた後のセルソーターによる分離は、ウイルスで感染する細胞数がごく少数なために分離が困難であることがわかった。そこで、レーザーマイクロディセクション法によりL1-INP細胞を単離し、RNAを精製し増幅をかけた後に、DNAマイクロアレイ解析を行う予定である。</p> <p>(2) <u>L1-INP細胞の培養系の構築</u> Venus発現レトロウイルスをあらかじめ感染させてL1-INP細胞をラベルしておいたマウス大脳皮質を用いてNeurosphereが形成させると、Venusを発現しているNeurosphereを見出した。この結果は、L1-INP細胞をin vitroで維持できていることを示唆している。また、培養液中に添加する成長因子類の濃度について最適化を行い、若干の改善を得た。</p> <p>(3) <u>L1-INP細胞による神経新生の生理的機能の解明</u></p>

様式19 別紙1

前年度に、L1-INP 細胞から産生した細胞のほとんどは抑制性神経細胞であり、これらの抑制性神経細胞により、脳虚血による神経細胞死が有意に抑制されることを見出した。この結果は、新しい神経細胞が脳内において何らかの機能を有していることを示唆している。これを受けて、新しい神経細胞がフルオキセチンの抗うつ作用を持っているのかどうかについて解析を開始し、まずマウスのうつモデルの作製を現在行っている。

(4) 霊長類大脳皮質における L1-INP 細胞の存在

ヒトへの L1-INP 細胞の応用を考えた場合、ヒトに L1-INP 細胞が存在しているのかが問題となる。そこで、ヒトに近縁である実験動物である小型霊長類マーモセットを用いて解析を行った。その結果、成熟したマーモセットにおいて、L1-INP 細胞のマーカーである Ki67 と GAD67 に二重陽性の細胞が、大脳皮質 1 層に存在していることを見出した。これにより、マーモセットにも L1-INP 細胞が存在する可能性が高いと考えられる。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 3 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 3 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Koji Ohira, Rika Takeuchi, Hirotaka Shoji, and Tsuyoshi Miyakawa. Fluoxetine-induced cortical adult neurogenesis. <i>Neuropsychopharmacology</i> (2013) 38: 909–920. 2. Keizo Takao, Katsunori Kobayashi, Hideo Hagihara, <u>Koji Ohira</u>, Hirotaka Shoji, Satoko Hattori, Hisatsugu Koshimizu, Juzoh Umemori, Keiko Toyama, Hironori K Nakamura, Mahomi Kuroiwa, Jun Maeda, Kimie Atsuzawa, Kayoko Esaki, Shun Yamaguchi, Shigeki Furuya, Tsuyoshi Takagi, Noah M Walton, Nobuhiro Hayashi, Hidenori Suzuki, Makoto Higuchi, Nobuteru Usuda, Tetsuya Suhara, Akinori Nishi, Mitsuyuki Matsumoto, Shunsuke Ishii, and Tsuyoshi Miyakawa. Deficiency of Schnurri-2, an MHC Enhancer Binding Protein, Induces Mild Chronic Inflammation in the Brain and Confers Molecular, Neuronal, and Behavioral Phenotypes Related to Schizophrenia. <i>Neuropsychopharmacology</i> (2013) online publication 6 March, doi: 10.1038/npp.2013.38. 3. Koji Ohira, Katsunori Kobayashi, Keiko Toyama, Hironori K Nakamura, Hirotaka Shoji, Keizo Takao, Rika Takeuchi, Shun Yamaguchi, Masakazu Kataoka, Shintaro Otsuka, Masami Takahashi, and Tsuyoshi Miyakawa. Synaptosomal-associated protein 25 mutation induces immaturity of the dentate granule cells of adult mice. <i>Molecular Brain</i> (2013) 6: 12. <p>(掲載済み一査読無し) 計 0 件</p> <p>(未掲載) 計 0 件</p>
<p>会議発表 計 10 件</p>	<p>専門家向け 計 10 件 国際学会</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Koji Ohira, R. Takeuchi, Hirotaka Shoji, and Tsuyoshi Miyakawa. Fluoxetine-induced cortical neurogenesis and its neuroprotective effects against ischemia. Neurogenesis (J7), Keystone Symposium, Santa Fe, NM, February 2013. 2. Koji Ohira, R. Takeuchi, and Tsuyoshi Miyakawa. Fluoxetine-induced cortical neurogenesis and its neuroprotective effects against ischemia. Neuroscience 2012, Society for Neuroscience, New Orleans, LA, October 2012. 3. Keizo Takao, Hideo Hagihara, <u>Koji Ohira</u>, Keiko Toyama, Hirotaka Shoji, Hironori Nakamura, Satoko Hattori, Hisatsugu Koshimizu, Juzoh Umemori, Tsuyoshi Takagi, Noah Walton, Shunsuke Ishii, Mitsuyuki Matsumoto, and Tsuyoshi Miyakawa. Deficiency of Schnurri-2, an MHC enhancer binding protein, induces mild chronic inflammation in the brain and confers molecular, neuronal, and behavioral phenotypes related to schizophrenia. Neuroscience 2012, Society for Neuroscience, New Orleans, LA, October 2012. 4. Hisatsugu Koshimizu, Koji Ohira, Hideo Hagihara, Keizo Takao, Tsuyoshi Takagi, Masakazu Kataoka,

様式19 別紙1

	<p>Shunsuke Ishii, Masami Takahashi, and Tsuyoshi Miyakawa. Upregulation of mature form brain-derived neurotrophic factor and carboxypeptidase E, and ectopic expression of tyrosine kinase receptor B in the hippocampus of mice with maturation failure in dentate gyrus neurons. <i>Neuroscience</i> 2012, Society for Neuroscience, New Orleans, LA, October 2012.</p> <p>5. <u>Koji Ohira</u>, Rika Takeuchi, and Tsuyoshi Miyakawa. Fluoxetine-induced cortical neurogenesis and its neuroprotective effects against ischemia. 11th Annual Meeting, The Molecular and Cellular Cognition Society, New Orleans, LA, October 2012.</p> <p>6. <u>Koji Ohira</u>, Rika Takeuchi, and Tsuyoshi Miyakawa. Fluoxetine-induced cortical neurogenesis and its neuroprotective effects against ischemia. 28th CIMP World Congress, The International College of Neuropsychopharmacology, Stockholm, Sweden, June 2012.</p> <p>国内学会</p> <p>1. <u>大平 耕司</u>、竹内 理香、宮川 剛. 抗うつ薬による成熟大脳皮質の神経新生と虚血に対する神経保護作用. 第35回日本神経科学大会、名古屋、2012. 9. 18.</p> <p>2. 小清水 久嗣、<u>大平 耕司</u>、萩原 英雄、高雄 啓三、宮川 剛. 歯状回ニューロンの成熟異常を示すマウスの海馬における成熟型 BDNF および carboxypeptidase E の発現上昇と TrkB の異所性発現. 第35回日本神経科学大会、名古屋、2012. 9. 18.</p> <p>3. 高雄 啓三、萩原 英雄、<u>大平 耕司</u>、遠山 桂子、昌子 浩孝、中村 寛則、服部 聡子、小清水 久嗣、梅森 十三、高木 豪、石井 俊輔、宮川 剛. Schnurri-2 欠損が引き起こす脳内の軽度な慢性炎症と統合失調症様の分子・神経・行動表現型. 第35回日本神経科学大会、名古屋、2012. 9. 20.</p> <p>4. <u>大平 耕司</u>、竹内 理香、宮川 剛. 成体大脳皮質の神経新生とその機能. 第90回日本生理学会大会、東京、2013. 3. 28.</p> <p>一般向け 計0件</p>
<p>図書</p> <p>計0件</p>	
<p>産業財産権 出願・取得状況</p> <p>計0件</p>	<p>(取得済み) 計0件</p> <p>(出願中) 計0件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>1. http://www.fujita-hu.ac.jp/ICMS/res06.html</p> <p>2. http://researchmap.jp/koji-ohira</p>
<p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>	<p>藤田保健衛生大学広報部より依頼があり、大学が発行している一般向けの学園広報誌「私立大学われを創りき」(平成24年7月20日発刊)に、大学での取り組み(研究等が中心)についての記事を執筆。</p>
<p>新聞・一般雑誌等掲載</p> <p>計8件</p>	<p>論文「Fluoxetine-induced cortical adult neurogenesis. <i>Neuropsychopharmacology</i> (2013)」について、国内外のテレビ、新聞、Web 上などで報道された。以下に論文内容が放送・掲載された主なメディアを挙げる。</p> <p>1. NHK(平成25年1月5日放送、「おはよう日本」番組内)</p> <p>2. CBC(平成25年1月7日放送、東海地方のニュース)</p> <p>3. 朝日新聞(平成25年1月5日、朝刊26面、Web)</p> <p>4. 中日新聞(平成25年1月5日、朝刊3面、Web)</p> <p>5. 日本経済新聞(平成25年1月6日、Web)</p>

様式19 別紙1

	6. 時事通信(平成25年1月5日、Web) 7. Science Daily(平成25年1月5日、Web) 8. EurekAlert!(平成25年1月5日、Web)
その他	

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成24年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されません

1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の累計)	③当該年度受領額	④(=①-②-③)未受領額	既返還額(前年度迄の累計)
直接経費	50,000,000	23,200,000	13,400,000	13,400,000	0
間接経費	15,000,000	6,960,000	4,020,000	4,020,000	0
合計	65,000,000	30,160,000	17,420,000	17,420,000	0

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執行額	②当該年度受領額	③当該年度受取利息等額 (未収利息を除く)	④(=①+②+③)当該年度合計収入	⑤当該年度執行額	⑥(=④-⑤)当該年度未執行額	当該年度返還額
直接経費	12,009,584	13,400,000	0	25,409,584	14,380,041	11,029,543	0
間接経費	0	4,020,000	0	4,020,000	4,020,000	0	0
合計	12,009,584	17,420,000	0	29,429,584	18,400,041	11,029,543	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	8,983,556	実験試薬、消耗品、実験動物等
旅費	787,934	研究成果発表旅費等
謝金・人件費等	2,925,300	研究補助員人件費
その他	1,683,251	英文校正費、論文のオープンアクセス費等
直接経費計	14,380,041	
間接経費計	4,020,000	
合計	18,400,041	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関名
該当なし				0		
				0		
				0		