

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 25 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・准教授
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 <i>in vitro</i> 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25年度目的>></p> <p>(1) 平成24年度から引続き、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) 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) 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きた。前年度、ヒトに近縁な霊長類の脳で、L1-INP 細胞が存在することを発見した。霊長類において、抗うつ薬の一つであるフルオキセチン(FLX)によって L1-INP 細胞の増殖が制御されるかどうか調べる。</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、レーザーマイクロディセクション法で 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。そのための RNA の精製と増幅の条件検討をおこなった。</p> <p>(2) <u>L1-INP 細胞の培養系の構築</u> 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、前年度よりも若干の改善を得た。</p> <p>(3) <u>霊長類大脳皮質における L1-INP 細胞の存在</u> 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。前年度に、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の前頭前野に L1-INP 細胞が存在することを、免疫染色法を用いることによって、発見している。マーモセットに FLX を投与し、あらかじめ細胞分裂マーカーである BrdU を投与しておくと、FLX 投与後1ヶ月で、前頭前野で BrdU と GAD67 で二重染色された新しい抑制性神経細胞が産生されていることを発見した。このことは、成熟した霊長類の大脳皮質にも L1-INP 細胞が存在すること、かつ抗うつ薬で L1-INP 細胞から新しい抑制性神経細胞を産生させることができることを示唆している。</p>

3. 研究発表等

<p>雑誌論文</p> <p>計 3 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 3 件</p> <p><u>Koji Ohira</u>, Rika Takeuchi, Tsuyoshi Iwanaga, Tsuyoshi Miyakawa. Chronic fluoxetine treatment reduces parvalbumin expression and perineuronal nets in gamma-aminobutyric acidergic interneurons of the frontal cortex in adult mice. <i>Molecular Brain</i> 6: 43, 2013.</p> <p>Satoko Hattori, Hideo Hagihara, <u>Koji Ohira</u>, Ichio Aoki, Tsuneo Saga, Tetsuya Suhara, Makoto Higuchi, Tsuyoshi Miyakawa. <i>In vivo</i> evaluation of cellular activity in αCaMKII heterozygous knockout mice using manganese-enhanced magnetic resonance imaging (MEMRI). <i>Frontiers in Integrative Neuroscience</i> 7: 76, 2013.</p> <p>Katherine G. Akers, Alonso Martinez-Ganabal, Leonardo Restivo, Adelaide P. Yiu, Antonietta De Cristofaro, Hwa-Lin (Liz) Hsiang, Anne L. Wheeler, Axel Guskjolen, Yosuke Niibori, Hirotaaka Shoji, <u>Koji Ohira</u>, Blake A. Richards, Tsuyoshi Miyakawa, Sheena A. Josselyn, Paul W. Frankland. Hippocampal neurogenesis regulates forgetting during adulthood and infancy. <i>Science</i> 344: 598-602, 2014.</p> <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</p> <p>計 8 件</p>	<p>専門家向け 計 8 件</p> <p>国際学会</p> <p>Koji Ohira, Rika Takeuchi, Tsuyoshi Miyakawa. Neuronal dematuration induced by antidepressant treatment in medial frontal cortex of adult mice. <i>Neuroscience 2012</i>, Society for Neuroscience, San Diego, CA, November 2013.</p> <p>Hisatsugu Koshimizu, Koji Ohira, Hideo Hagihara, Keizo Takao, Tsuyoshi Takagi, Masakazu Kataoka, Shunsuke Ishii, Masami Takahashi, Tsuyoshi Miyakawa. Dysregulation of BDNF-MAPK signaling pathway in the hippocampus of mice with “immature dentate gyrus”. <i>Neuroscience 2012</i>, Society for Neuroscience, San Diego, CA, November 2013.</p> <p>Keizo Takao, Hideo Hagihara, Koji Ohira, Hirotaaka Shoji, Satoko Hattori, Hisatsugu Koshimizu, Juzoh Umemori, Tsuyoshi Takagi, Shunsuke Ishii, Tsuyoshi Miyakawa. Immature dentate gyrus, a candidate endophenotype for psychotic disorders, emerges after adolescence in Schnurri-2 KO mice. <i>Neuroscience 2012</i>, Society for Neuroscience, San Diego, CA, November 2013.</p> <p>国内学会</p> <p>大平耕司、竹内理香、宮川剛. 抗うつ薬によって引き起こされる成体マウス前頭皮質内側部の脱成熟. 第 36 回日本神経科学大会、京都、2013. 6. 22.</p> <p>高雄啓三、萩原英雄、大平耕司、昌子浩孝、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 マウスで見られる精神疾患の中間表現型としても未成熟歯状回は成育後に出現する. 第 36 回日本神経科学大会、京都、2013. 6. 22.</p> <p>小清水久嗣、大平耕司、萩原英雄、高雄啓三、高木豪、片岡正和、石井俊輔、高橋正身、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 BDNF-MAPK シグナル経路の調節異常. 第 36 回日本神経科学大会、京都、2013. 6. 22.</p> <p>大平耕司、竹内理香、宮川剛. 抗うつ薬によって引き起こされる成体マウス前頭皮質内側部の脱成熟. 包括型脳科学研究推進支援ネットワーク夏のワークショップ、名古屋、2013. 8. 31.</p> <p>大平耕司、竹内理香、岩永剛、宮川剛. 成体マウスの前頭皮質と海馬において、抗うつ薬の長期投与によって抑制性神経細胞のパーバアルブミンとペリニューロナルネットが減少した. 第 43 回日本神経精神薬理学会、沖縄、2013. 10. 25.</p>

様式19 別紙1

	一般向け 計0件
図書 計0件	
産業財産権 出願・取得状 況 計0件	(取得済み) 計0件 (出願中) 計0件
Webページ (URL)	1. 藤田保健衛生大学総合医科学研究所システム医科学(http://www.fujita-hu.ac.jp/ICMS/res06.html) 2. researchmap (http://researchmap.jp/koji-ohira)
国民との科 学・技術対話 の実施状況	平成25年8月24日(土)、日本科学未来館で行われた中高生を対象にしたイベント「リアル研究者体験」において、ラボで行っている研究の説明や実演を行った(参加者数15名)。
新聞・一般雑 誌等掲載 計4件	論文「Chronic fluoxetine treatment reduces parvalbumin expression and perineuronal nets in gamma-aminobutyric acidergic interneurons of the frontal cortex in adult mice(2013)」について、中日新聞(2013年11月5日朝刊3面、前頭葉の神経細胞抗うつ薬で若返る 藤田保健衛生大 副作用抑制に期待)、Science Daily (Nov 4, 2013; http://www.sciencedaily.com/releases/2013/11/131104112633.htm ; Antidepressant drug induces a juvenile-like state in neurons of the prefrontal cortex)、EurekAlert! (Nov 4, 2013; http://www.eurekalert.org/pub_releases/2013-11/fhui-adi102413.php ; Antidepressant drug induces a juvenile-like state in neurons of the prefrontal cortex)、Medical Daily (Nov 4, 2013; Prozac Can Make Your Brain Age In Reverse: Antidepressant Use Makes Prefrontal Cortex Appear Juvenile-Like) など国内外の新聞、Web上で報道された。
その他	

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成25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	36,600,000	13,400,000	0	
間接経費	15,000,000	10,980,000	4,020,000	0	
合計	65,000,000	47,580,000	17,420,000	0	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	11,029,543	13,400,000	0	24,429,543	24,429,543	0	
間接経費	0	4,020,000	0	4,020,000	4,020,000	0	
合計	11,029,543	17,420,000	0	28,449,543	28,449,543	0	0

3. 当該年度の執行額内訳 (単位:円)

	金額	備考
物品費	15,292,733	研究に使用する試薬等
旅費	129,070	研究成果発表旅費等
謝金・人件費等	8,309,461	研究補助員人件費等
その他	698,279	英文校正等
直接経費計	24,429,543	
間接経費計	4,020,000	
合計	28,449,543	

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
インジェクター	バイオリサーチセンター・051-0500-900	1	708,225	708,225	H25. 7. 25	藤田保健衛生大学
BDNF	フナコシ 450-02(1mg)	1	682,500	682,500	H25. 8. 12	藤田保健衛生大学
NeuroLucidaソフトウェアシステム(ライセンス)	MBF'n・ライセンス NeuroLucida/アトクニエスタター・ドメインセン、AutoNeuron/アトクニエスタター・各1	1	2,884,875	2,884,875	H25. 9. 4	藤田保健衛生大学
MultiSite Gateway Pro Plus	Lifetechnologies 12537-100 20回	1	512,190	512,190	H26.1. 22	藤田保健衛生大学