

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 革新的技術による脳機能ネットワークの全容解明プロジェクト
(英語) Brain Mapping by Integrated Neurotechnologies for Disease Studies
(Brain/MINDS)

研究開発課題名： (日本語) マーモセット中枢神経系の細胞種特異的、回路特異的遺伝子発現ウイルスベクターの開発
(英語) Development of cell type-specific gene expression techniques in marmoset brain

研究開発担当者 (日本語) 国立大学法人群馬大学 教授 平井 宏和

所属 役職 氏名： (英語) Gunma University, Professor, Hirokazu Hirai

実施期間： 平成28年4月1日 ～ 平成29年3月31日

II. 成果の概要 (総括研究報告)

細胞種特異的プロモーターを組み込んだウイルスベクターは、時期、細胞種特異的に外来遺伝子を効率的に発現できるツールとしてげっ歯類を用いた研究で急速に広まっている。ウイルスベクターに搭載できる遺伝子の長さには制限があるため、プロモーターは短くコンパクトで、かつ活性が高い必要がある。本研究では、マーモセット中枢神経系に最適化した細胞種特異的遺伝子発現手法の開発を行うことを目的とした。その結果、アストロサイト特異的プロモーター、ニューロン特異的プロモーターなど5種類の細胞種特異的プロモーターの開発に成功した。今回開発したプロモーターをウイルスベクターと組み合わせることで、マーモセット中枢神経系の特定の細胞群に限局した遺伝子操作が可能になるため、マーモセット研究の進展に大きく寄与すると考えられる。

Viral vectors carrying cell type-specific promoters allow us to express transgenes specifically in certain cell types in a temporally regulated manner. Compact cell type-specific promoters with robust promoter activity are indispensable for viral vector-mediated transgene expression. In the present project, we aimed to develop various cell type-specific promoters optimized to the marmoset brain. As a consequence, we succeeded to develop 5 cell type-specific promoters including

astrocyte-specific and neuron-specific ones. Combination of the promoters we developed here with viral vectors enables to regulate gene expressions as well as to edit genes in specific cell populations. Thus, our results should contribute significantly to the progress of research using marmosets.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 1件、国際誌 5件）

1. Monai H, Ohkura M, Tanaka M, Oe Y, Konno A, Hirai H, Mikoshiba K, Itohara S, Nakai J, Iwai Y, Hirase H. Calcium imaging reveals glial involvement in transcranial direct current stimulation-induced plasticity in mouse brain. *Nature Communications*. 2016 Mar 22;7:11100.
2. Sawada Y, Konno A, Nagaoka J, Hirai H. Inflammation-induced reversible switch of the neuron-specific enolase promoter from Purkinje neurons to Bergmann glia. *Scientific Reports*. 2016 Jun 13;6:27758.
3. Shinohara Y, Konno A, Takahashi N, Matsuzaki Y, Kishi S, Hirai H. Viral Vector-Based Dissection of Marmoset GFAP Promoter in Mouse and Marmoset Brains. *PLoS One*. 2016 Aug 29;11(8):e0162023.
4. Matsuzaki Y, Konno A, Mukai R, Honda F, Hirato M, Yoshimoto Y, Hirai H. Transduction profile of the marmoset central nervous system using adeno-associated virus serotype 9 vectors. *Molecular Neurobiology*. 2017, 54(3):1745–1758. Epub 2016 Feb 16.
5. 平井宏和. みにれびゅう “ニューロン特異的エノラーゼ(NSE)”は炎症があるとニューロンではなくグリア細胞で産生される. *生化学*. 2017, 89(2), 241–3.
6. Shinohara Y, Ohtani T, Konno A, Hirai H. Viral vector-based evaluation of regulatory regions in the neuron-specific enolase (NSE) promoter in mouse cerebellum in vivo. *Cerebellum*. In press.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Efficient Gene Transfer into the Marmoset Central Nervous System Using AAV9 Vectors, ポスター, 松崎 泰教、今野 歩、向井 亮、本多 文昭、平戸 政史、好本 裕平、平井 宏和, 第6回日本マーモセット研究会, 2016/12/12, 国内.
2. Generation of a marmoset model of spinocerebellar ataxia type 3 via AAV9 vector-mediated gene transfer, ポスター, Konno A, Matsuzaki Y, Hirai H, Neuroscience 2016, 11/13/2016, 国外.
3. Progressive impairment of metabotropic glutamate receptor (mGluR) mediated signaling and cerebellar synaptic plasticity in spinocerebellar ataxia type 1 (SCA1) model mice, ポスター, Hosoi N, Shuvaev AN, Hirai H, Neuroscience 2016, 11/13/2016, 国外.
4. Generation of animal models of spinocerebellar ataxia via AAV9 vector-mediated gene transfer, ポスター, Konno A, Matsuzaki Y, Hirai H, 第22回日本遺伝子細胞治療学会, 7/29/2016, 国内.
5. Development of viral vectors labeling a specific cell population in non-human primates and

- their application to generation of a neurodegenerative disease model, 口頭, Hirai H, 第39回日本神経科学大会, 7/22/2016, 国内.
6. Reversible conversion of the neuron-specific enolase promoter activity from neuron to astrocyte induced by neuroinflammation after brain injury, ポスター, Sawada Y, Konno A, Nagaoka J, Hirai H, 第39回日本神経科学大会, 7/21/2016, 国内.
 7. Impaired synaptic plasticity at cerebellar parallel fiber-Purkinje cell synapses in AAV vector-based mouse model of spinocerebellar ataxia type 3, ポスター, Watanabe M, Konno A, Hirai H, 第39回日本神経科学大会, 7/22/2016, 国内.
 8. Progressive impairment of cerebellar synaptic plasticity in spinocerebellar ataxia type 1, ポスター, Hosoi N, Shuvaev AN, Hirai H, 第39回日本神経科学大会, 7/22/2016, 国内.
 9. 運動の記憶を形成する細胞内シグナルー脊髄小脳変性症マウスを用いた解析と治療の可能性ー, 口頭, 平井宏和、シュワエフ アントン、細井延武, 第46回日本神経精神薬理学会年会, 7/2/2016, 国外(韓国ソウル).
 10. 脊髄小脳変性症1型モデルマウスにおける短期・長期シナプス可塑性と Ca^{2+} シグナルの進行性異常, ポスター, 細井延武、シュワエフ アントン、平井宏和, 第93回日本生理学会大会, 3/23/2016, 国内.
 11. AAV9 による遺伝子導入を介した脊髄小脳失調症モデル動物の作出, ポスター, 今野歩、松崎泰教、平井宏和, 第93回日本生理学会大会, 3/23/2016, 国内.
 12. Inflammation-induced switch of the neuron-specific enolase promoter activity from Purkinje neuron to Bergmann glia, ポスター, Sawada Y, Konno A, Ohtani T, Takahashi N, Matsuzaki Y, Kishi S, Hirai H, 第6回国際放射線神経生物学会大会, 2/13/2016, 国内.
 13. AAV9 vector - mediated production of animal models of spinocerebellar ataxia. ポスター, Konno A, Matsuzaki Y, Hirai H, 第6回国際放射線神経生物学会大会, 2/13/2016, 国内.
 14. AAV9 による遺伝子導入を介した脊髄小脳失調症 3 型モデルマウスの作出, ポスター, 今野歩, 松崎泰教, 篠原 洋一郎, 平井 宏和, 第38回日本神経科学大会, 7/28/2015, 国内.
 15. Gene and stem cell therapies against polyglutamine diseases, 口頭, 平井 宏和, 第56回日本神経学会学術大会, 5/20/2015, 国内.
 16. Producing animal models of spinocerebellar ataxia type 3 via a viral vector-mediated gene delivery, ポスター, Konno A, Matsuzaki Y, Hirai H, 第5回国際放射線神経生物学会大会, 2/21/2015, 国内.
 17. AAV による遺伝子導入を介した脊髄小脳変性症3型モデルマウスの作出, ポスター, 今野歩, 平井 宏和, 第37回日本神経科学大会, 9/13/2014, 国内.
 18. Molecular mechanisms and potential therapies of the spinocerebellar ataxia and the future perspective of the clinical application, 口頭, Hirai H, International congress on Neuroscience 6/20/2014, 国外.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 脊髄小脳失調症の治療について, 今野歩, 細井 延武, 平井 宏和, 群馬大学「小中学生のための医学研究者体験教室」, 2016/8/4, 国内.
2. 小脳が司る運動学習とその異常について, 今野歩, 細井 延武, 平井 宏和, 群馬大学

世界脳週間 2016「脳大学」, 2016/4/29, 国内.

3. 脊髄小脳失調症モデルマーマーモセットの作成について, 今野歩, 細井 延武, 平井 宏和, 群馬大学「小中学生のための医学研究者体験教室」, 2015/8/17, 国内.
4. 小脳が司る運動学習の体験について, 今野歩, 細井 延武, 平井 宏和, 群馬大学 世界脳週間 2015「脳大学」, 2015/4/29, 国内.

(4) 特許出願

なし