

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) 革新的先端研究開発支援事業ユニットタイプ「生体恒常性維持・変容・破綻機構のネットワーク的理解に基づく最適医療実現のための技術創出」
研究領域

(英語) Advanced Research and Development Programs for Medical Innovation

研究開発課題名： (日本語) 環境適応・ストレス応答の生体恒常性を司る神経幹細胞の制御と破綻

(英語) Homeostatic Regulation and Dysregulation of Neural Stem Cells under Physiological and Pathological Challenges

研究開発担当者 (日本語) 東京大学大学院薬学系研究科 教授 後藤由季子

所属 役職 氏名： (英語) Graduate School of Pharmaceutical Sciences, The University of Tokyo
Professor, Yukiko Gotoh

実施期間： 平成 28年 4月 1日 ～ 平成 29年 3月 31日

分担研究 (日本語) 環境適応・ストレス応答の生体恒常性を司る神経幹細胞の制御と破綻

開発課題名： (英語) Homeostatic Regulation and Dysregulation of Neural Stem Cells under Physiological and Pathological Challenges

II. 成果の概要 (総括研究報告)

近年、学習・記憶やストレスからの回復に、成体脳でニューロンを日々新生する神経幹細胞の存在が重要であると示唆されている。私たちはこれまでに、この成体神経幹細胞を作り出す胎生期の新しい細胞群(「起源細胞」と呼ぶ)を見出した。そこで本研究では、これらの起源細胞群の特徴を解析し、発達期から成体期、老齢期というライフステージにおける制御機構を明らかにすることで、個体の恒常性と神経幹細胞との関連に迫る。

本年度は胎生期の脳発生に特に注力し、(1)胎生期「起源細胞」の性質を解析し、またその知見に基づいて(2)「起源細胞」特異的に発現するマーカー分子の同定を試みた。さらに正常な胎生期脳構築を理解する手がかりとして(3)神経幹細胞がニューロン分化した後にはいかなるメカニズムで脳内の最終目的地へ移動するのかについても解析を行った。

(1) 胎生期「起源細胞」の性質の解析

胎生期において脳をつくるほとんどの神経幹細胞は(限られた期間内に脳を形成するために)素早く分裂している。一方で成体神経幹細胞の「起源細胞」群は、胎生期においてすでに分裂を抑制していることを私たちは見出している (Furutachi et al. Nat. Neurosci. 2015)。この素早く分裂する神経幹細胞とゆっくり分裂する神経幹細胞では、どのような性質に違いがあるかを検討するために、それぞれ FACS を用いて単離し RNA sequencing を行なった。その結果、ゆっくり分裂する神経幹細胞において Notch シグナル伝達に関わる分子の発現パターンが異なることが明らかになった。Notch シグナル伝達は、神経幹細胞のニューロン分化を抑制し、幹細胞性を維持することが知られている。そこでこの Notch シグナル伝達分子の発現の違いが「素早く分裂する神経幹細胞」と「ゆっくり分裂する神経幹細胞(起源細胞)」の運命を分けている可能性を考えた。実際に、このゆっくり分裂する神経幹細胞において高い発現を示す Notch シグナル伝達メンバーは、成体神経幹細胞においても静止期状態で高発現することを見出した(未発表)。さらにこの Notch シグナル伝達メンバーを遺伝子破壊すると成体神経幹細胞の静止期状態が破綻し、長期維持できなくなることが明らかになった(未発表)。そこで Notch シグナル伝達の質的な違いが胎生期「起源細胞」の長期維持に寄与し、成体神経幹細胞の形成に貢献している可能性を考えている。

(2) 「起源細胞」特異的に発現するマーカー分子の同定の試み

上述のように、ゆっくり分裂する胎生期神経幹細胞に特徴的な発現をする遺伝子群を同定した。Notch 関連分子を含むいくつかの遺伝子について *in vivo* の発現パターンと起源細胞との相関を調べマーカー分子候補の選出を行なった。現在それらの候補遺伝子座を用いた系譜追跡を行い、成体神経幹細胞の系譜をラベルするかについて検討中である。

(3) 胎生期神経幹細胞からニューロン分化した後の移動メカニズム

胎生期と成体のいずれにおいても、神経幹細胞はニューロン分化すると直ちにその最終到達地に向かって移動を開始する。その移動過程が損なわれると様々な脳疾患に繋がることが知られており、脳の生体恒常性を明らかにする為には移動過程についても理解する必要がある。そこで我々は脳新皮質をモデル系として用い、このニューロン分化後に起こる移動過程を制御するメカニズムについて検討したところ、PDK1-Akt 経路が重要な役割を果たすことを見出した (Itoh et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2016)。PDK1-Akt 経路は、新生ニューロンにおいて微小管の重合を促進し、微小管依存的な核と中心体の間の距離の調節に関与していることが示された。さらに微小管モータータンパク質の制御にも関わることを示唆された。Akt 遺伝子座の変異は統合失調症等におけるリスク因子としても挙げられており、本研究で見出した Akt のニューロン移動における新たな機能は精神疾患の病態の理解に貢献する可能性がある。

Newborn neurons generated in two neurogenic niches in the adult mammalian brain—the subventricular zone and hippocampal dentate gyrus—have been suggested to participate in innate behaviors as well as in adaptive responses such as learning and memory. It has long been enigmatic how adult neural stem cells are generated during development and how they are related to embryonic neural stem cells responsible for brain formation. It is important to uncover the identity and to characterize the embryonic origin of adult neural stem cells as well as to understand how this cell lineage is influenced by various environmental and genetic factors in the early stages of life, given that such influences might contribute to the development of cognitive deficits later in life as a result of

dysfunction of postnatal or adult neurogenesis.

In general, embryonic neural stem-progenitor cells divide frequently in order to form the brain within a limited period, whereas adult neural stem cells are maintained in a quiescent state and divide infrequently so as to ensure their survival for an extended period (up to a lifetime) (see Furutachi et al., EMBO J. 2013, and references therein). It has been proposed that adult neural stem cells are selected postnatally from among the embryonic neural stem cells that remain after most of these cells have undergone terminal differentiation into neurons and glial cells. However, our group previously revealed the embryonic origin of adult subventricular neural stem cells, which are set aside and become quiescent at an early stage of development (Furutachi et al., Nat. Neurosci. 2015). In this AMED-CREST project, we therefore aim to characterize these quiescent or slowly dividing embryonic neural stem cells that are destined to become adult neural stem cells.

During this fiscal year, we have isolated rapidly dividing and slowly dividing embryonic neural stem cells from the developing mouse forebrain with the use of fluorescence-activated cell sorting and have performed RNA sequencing analysis on these cells. We have identified transcripts for several signaling molecules, adhesion molecules, metabolic enzymes, and other proteins that are more abundant in the slowly dividing cells than in the rapidly dividing ones. We are now examining which molecules are indeed more highly expressed in the slowly dividing cells and the potential roles of these molecules in this cell population.

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 〃件、国際誌 1件）

1. Itoh, Y., Higuchi, M., Oishi, K., Kishi, Y., Okazaki, T., Sakai, H., Miyata, T., Nakajima, K., Gotoh, Y. The PDK1-Akt Pathway Regulates Radial Neuronal Migration and Microtubules in the Developing Mouse Neocortex, **PNAS**.2016,113(21)E2955-64

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Molecular Mechanisms Regulating the Neurogenic Stem Cell Niche in the Embryo and Adult Brain, 口頭, Shima Yamaguchi, Yujin Harada, Shohei Furutachi, Yukiko Gotoh, 18th International Neuroscience Winter Conference, Innsbruck, Austria, 2016/4/2-6, 国外
2. Regulation of neural stem cell fate during mouse development, 口頭, Hikaru Eto, Masafumi Tsuboi, Yusuke Kishi, Yukiko Gotoh, Gordon Research Conference (Molecular & Cellular Neurobiology), Hong Kong, China, 2016/6/12-17, 国外

3. Intrinsic and Extrinsic Regulators of Neural Stem Cells, 口頭, Shima Yamaguchi, Yujin Harada, Shohei Furutachi, Yukiko Gotoh, Gordon Research Conference Neural Development, Newport, USA., 2016/7/31-8/5, 国外
4. Regulation of neural stem cell fate during mouse development, 口頭, Hikaru Eto, Masafumi Tsuboi, Yusuke Kishi, Yukiko Gotoh, EMBO workshop (Neural Function and Cell Fate Choice), Kyllini, Greece, 2016/9/18-22, 国外
5. Special Lectures/Regulation of Neural stem cell fate during development and in the adult, 口頭 (Plenary lecture), Yukiko Gotoh, Society for Neuroscience 46th Annual Meeting, San Diego, USA., 2016/11/12-16, 国外
6. Locus-specific expansion of Polycomb domain determines the temporal repression of the neurogenic genes in neocortical development, 口頭, Yusuke Kishi, Yusuke Hirabayashi, Kelsey Tyssowski, Haruhiko Koseki, Yutaka Suzuki, Yukiko Gotoh, 第 14 回幹細胞シンポジウム, 兵庫、2016/5/20-21, 国内
7. 神経幹細胞の運命制御、口頭、後藤由季子、タイムシグナルと制御シンポジウム、静岡、2016/6/10-11、国内
8. 成体神経幹細胞の静止期制御と胎生期感染、口頭、河合 宏紀, 成嶋 千春, 古舘 昌平, 後藤由季子、第 68 回日本細胞生物学会大会、京都、2016/6/15-17、国内
9. 脳発生および成体における神経幹細胞の運命制御、口頭、後藤由季子、第 136 回奈良医学会、奈良、2016/7/5、国内
10. A mechanism of autism-related cortical overgrowth at early postnatal stages, 口頭, Daichi Kawaguchi, Dennis O'Leary, Yukiko Gotoh, 第 39 回日本神経科学大会、神奈川、2016/7/20-22、国内
11. 大脳新皮質ニューロン分化過程におけるクロマチン構造変化、口頭、岸雄介、川路啓太、坂井星辰、後藤由季子、第 89 回日本生化学会大会、宮城、2016/9/25-27, 国内
12. Regulation of neural stem cell fate during development and in the adult、口頭、後藤由季子、熊本大学リエゾンラボ研究会、熊本、2016/9/28、国内
13. 神経発生におけるクロマチン構造制御の役割、口頭、岸雄介、名古屋大学 IGER SEMINAR/ アドバンス生命理学特論、愛知、2016/10/21、国内
14. 神経幹細胞の運命制御、口頭、後藤由季子、六甲医学研究会、兵庫、2016/10/28-29、国内
15. Regulation of neural stem cell fate during development and in the adult、口頭、後藤由季子、第 14 回 RCGM フロンティア国際シンポジウム、埼玉、2016/11/11-12、国内
16. Regulation of neural stem cell fate by intrinsic and extrinsic factors, 口頭、後藤由季子、第 39 回日本分子生物学会年会、神奈川、2016/11/30-12/2、国内
17. 神経幹細胞の運命制御、口頭、後藤由季子、科学技術交流フォーラム、東京、2017/2/17、国内
18. ニューロン成熟過程における major satellite の役割、口頭、木下隆太、岸雄介、後藤由季子、第 10 回神経発生討論会、宮城、2017/3/10-11、国内
19. Early, brain-specific deletion of Fgf10 produces mice with brain and behavioral defects relevant to autism, ポスター、Daichi Kawaguchi, Dennis O'Leary, Yukiko Gotoh, Gordon Research Seminar and Conference (Neural Development), Newport, USA.,2016/7/30-8/5, 国外

20. Role of the cdk inhibitor p57^{kip2} in regulating the fate of embryonic neural progenitor cells, ポスター, Yujin Harada, Shohei Furutachi, Daichi Kawaguchi, and Yukiko Gotoh, Society of Neuroscience, San Diego, USA., 2016/11/12-16, 国外
21. Global changes of the chromatin state during neuronal maturation, ポスター、Yusuke Kishi, Shintaro Hirano, Seishin Sakai, and Yukiko Gotoh, The Start of New Genomics, Tokyo, 2017/1/10-11, 国内
22. Locus-specific expansion of Polycomb domain determines the temporal repression of the neurogenic genes in neocortical development, ポスター、Yusuke Kishi, Yusuke Hirabayashi, Kelsey Tyssowski, Haruhiko Koseki, Yutaka Suzuki and Yukiko Gotoh, The Start of New Genomics, Tokyo, 2017/1/10-11, 国内
23. Area-specific regulation of quiescent neural stem cells by Notch3 in the adult mouse subependymal zone, ポスター、Hiroki Kawai, Shohei Furutachi, Benjamin D. Kuebrich, Takeo Kitamoto, Masahiro Yamaguchi, and Yukiko Gotoh, Keystone Symposia Neurogenesis in Development and the Adult Brain, California, USA., 2017/1/8-13, 国外
24. 成体神経幹細胞の胎生期起源細胞を形成するトリガーの探索、ポスター、山口詩真、渡辺知幸、河合宏紀、古舘昌平、後藤由季子、第 28 回高遠シンポジウム、長野、2016/8/25-26、国内
25. Area-specific regulation of quiescent neural stem cells by Notch3 in the adult mouse subependymal zone, ポスター、Hiroki Kawai, Shohei Furutachi, Ben Kuebrich, Takeo Kitamoto, Masahiro Yamaguchi, and Yukiko Gotoh、第 10 回 Notch 研究会、静岡、2016/10/5-6, 国内
26. In utero transfection to neuroepithelial cells before neural tube closure、ポスター、Yusuke Kishi, Keisuke Hashimoto, Yurie Maeda, Toshiaki Katada, Kenji Kontani and Yukiko Gotoh、第 10 回神経発生討論会、宮城、2017/3/10-11, 国内
27. 自閉症早期にみられる領域特異的な大脳皮質肥大化に関わる分子機構、ポスター、川口大地、後藤由季子、第 10 回神経発生討論会、宮城、2017/3/10-11, 国内
28. ニューロン成熟過程におけるグローバルなクロマチン構造変化、ポスター、坂井星辰、岸雄介、後藤由季子、第 10 回神経発生討論会、宮城、2017/3/10-11、国内
29. ポリコム群タンパク複合体による神経系前駆細胞の制御、ポスター、衛藤光、岸雄介、後藤由季子、第 10 回神経発生討論会、宮城、2017/3/10-11、国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 脳を作る幹細胞の運命制御、後藤由季子、宮城、第 6 回東北ウインタースクール、2017/2/18-19、国内
2. 京都大学大学院授業「先端生命科学」、後藤由季子、京都、2017/1/24、国内

(4) 特許出願

なし