

平成 30 年 6 月 20 日現在

機関番号：82609

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K14569

研究課題名(和文) マウス大脳皮質ニューロン数の飛躍的増加による脳機能進化の試み

研究課題名(英文) The experimental attempt for brain evolution by increase of neurons in mouse cerebral cortex

研究代表者

岡戸 晴生 (OKADO, haruo)

公益財団法人東京都医学総合研究所・脳発達・神経再生研究分野・プロジェクトリーダー

研究者番号：60221842

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、マウス脳を霊長類型脳に変換する試みを通して、脳の進化機構の解明を目指す。我々は転写抑制因子RP58の欠損により、マウス新皮質において、霊長類で特徴的な細胞増殖層(OSVZ)を見出した。RP58の欠損は細胞周期離脱を遅延させることから、「細胞周期離脱を抑制することが、神経前駆細胞の著明な増加を惹起する」という仮説の検証を試みた。大脳皮質の神経前駆細胞の増殖が継続変異マウスに、子宮内エレクトロポレーション、ウイルスベクターによりRP58の補充を試みたが、不十分であることが明らかとなった。そこで、人為的な遺伝子の発現制御ができるFASTシステムの導入を開始した。

研究成果の概要(英文)：RP58 KO mice display an increase in progenitor cells due to inhibition of cell cycle exit. RP58 KO cortex shows a three-layered structure with an outer Pax6 layer, which resembles the primate outer subventricular zone (OSVZ). The OSVZ is known to be important for increase of cortical neurons in the primate brain. We propose that a primate-like cortex can be generated from a rodent cortex by modulating cell cycle exit of progenitor cells. For example, inhibition of RP58 activity early in development may increase progenitor cell number leading to the formation of an OSVZ. Subsequent activation of RP58 may increase differentiation of mature neurons leading to formation of a large cortex with gyri.

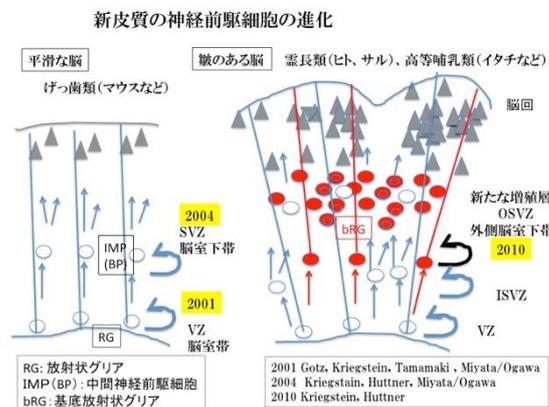
To examine the hypothesis, we tried to rescue these cells by RP58 supply at good timing using in utero electroporation or adenovirus vectors. However, we found these methods are insufficient in efficiency. Now we start FAST system for regulation of RP58 transcription.

研究分野：神経生物学

キーワード：RP58 大脳皮質 RP58 大脳新皮質 外側脳室下帯OSVZ

1. 研究開始当初の背景

霊長類を含む高等ほ乳類では、大脳皮質におけるニューロン数が飛躍的に増加している。このニューロン数の増大が、高等ほ乳類の知能の向上をもたらすことが示唆されている (Roth & Dicke, 2005)。しかし、実験的な検証はない。マウスでは、新皮質には脳室帯と脳室下帯という2つの増殖層が同定されている。近年、霊長類を含む高等ほ乳類では、さらに第3の増殖層として外側脳室下帯(OSVZ)が発見された(下図)。



2. 研究の目的

本研究は、マウス脳を霊長類型脳に変換する試みを通して、脳の進化メカニズム解明の糸口を得る試みである。霊長類における高次機能の担い手は、大脳新皮質の飛躍的なニューロン数の増加であると推察されるが、実証はされていない。そこで本研究では、マウス大脳新皮質のニューロン数を増加させ、それによって、学習記憶を含む脳機能の変化を明らかにすることで、大脳皮質ニューロン数が脳機能を規定しているか否かを明らかにすることを目的とする。

代表者らは転写抑制因子RP58の欠損マウス新皮質において、霊長類を含む高等ほ乳類で特徴的な細胞増殖層(OSVZ)を見出した。RP58の欠損は、細胞周期離脱を遅延させることから、「細胞周期離脱を抑制することが、ニューロン数の著明な増加を惹起する」という因果関係を実証する。さらにその脳機能を解析

し、「大脳皮質ニューロン数の増加が、脳機能進化をもたらす」という仮説を検証する。

3. 研究の方法

補充法、抑制解除法、発現調節法を用いて、RP58の発現抑制と促進の人為的コントロールを試みる。すなわち、未分化段階でRP58を欠損させ、マウス神経前駆細胞に霊長類型 OSVZ 構造を形成させたのち、ニューロン分化直後にタイミング良くRP58の発現を再開させ、皮質ニューロン数の飛躍的な増加を狙う。そのマウスの行動解析をすることにより、大脳皮質のニューロン数と脳機能の因果関係の関係を明らかにする。

4. 研究成果

(1) 補充法: 出生後P1-P2でアデノ随伴ウイルス(AAV)を導入したところ、広い範囲でGFPの導入に成功した。そこでこの方法を用いてRP58の補充を試み、解析した。しかし、これまでのところ導入効率の点で、行動解析には不十分であることが判明した。より導入効率の良い改良AAVの使用を検討中である。

(2) 抑制解除法: RP58のプロモータ領域にFAST(Stop配列-Tet0配列がloxPで挟まれている)マウスのホモマウスを作製したが、OSVZ様構造は形成されていなかった。従ってこの方法は不適當であることが判明した。

(3) 発現調節法: FASTVマウスからStop配列を除き、Tet0配列を上流に持つマウスを作製することができた。本方法は適当なタイミングでRP58の発現を停止/再開するために、トランスサイレンサー(tTS)を発現するマウス(act in-tTSマウス)を導入した。そしてtTSの結合部位(tet0)をRP58の上流に持つ、tet0-RP58マウスを二系統作製し交配を開始した。マウスは出生後、数日で脳の発達不全がみられた。今後tTSの機能を阻害するために、ドキシサイクリンの餌を出生直前から投与し、RP58の発現回復を試みる。その結果、異常増

殖した神経前駆細胞の成熟により脳拡大の達成を期待して、実験を継続している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 3 件)

Hirai S, Hotta K, Kubo Y, Nishino A, Okabe S, Okamura Y, *Okado H AMPA glutamate receptors are essential for sensory-organ formation and morphogenesis in the basal chordate Proc Natl Acad Sci U S A. 2017 Mar 27. pii: 201612943. doi: 10.1073/pnas.1612943114. 査読あり

Ishigaki S, Fujioka Y, Okada Y, Riku Y, Udagawa T, Honda D, Yokoi S, Endo K, Ikenaka K, Takagi S, Iguchi Y, Sahara N, Takashima A, Okano H, Yoshida M, Warita H, Aoki M, Watanabe H, Okado H, Katsuno M, Sobue G. Altered Tau Isoform Ratio Caused by Loss of FUS and SFPQ Function Leads to FTLD-like Phenotypes. Cell Rep. 2017 18:1118-1131. doi: 10.1016/j.celrep.2017.01.013. Cell Rep. 18:1118-1131. 査読あり

Nonaka T, Suzuki G, Tanaka Y, Kametani F, Hirai S, Okado H, Miyashita T, Saitoe M, Akiyama H, Masai H, of TDP-43. Hasegawa M. (2016) Phosphorylation of TAR DNA-binding Protein of 43 kDa (TDP-43) by Truncated Casein Kinase 1 Triggers Mislocalization and Accumulation Phosphorylation of TAR DNA-binding Protein of 43 kDa (TDP-43) by Truncated Casein Kinase 1 Triggers Mislocalization and Accumulation Biol Chem. 291:5473-83. doi: 10.1074/jbc.M115.695379. 査読あり

〔学会発表〕(計 4 件)

神寄誠司、平井志伸、新保裕子、岡戸晴生 知的障害を持つ患者群から発見された

RP58/ZNF238変異体の機能 解析第39回日本神経科学大会 2016年

新保裕子、平井志伸、神寄誠司、田中謙二、岡戸晴生 選択的欠失によるRP58/ZNF238のバリエーションによる脳形態および脳機能異常第39回日本神経科学大会 2016年

高沢 克子、平井 清華、進藤 真由美、新保 裕子、岡戸 晴生 転写抑制因子RP58に結合する蛋白の網羅的な探索 第39回日本分子生物学会 2016年

新保裕子、平井志伸、神寄誠司 松本良江、田中謙二、岡戸晴生 RP58の適切なバリエーションと発現量が脳発達に重要である 第39回日本分子生物学会 2016年

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 2 件)

名称：リアノジン受容体活性化剤およびその利用

発明者：上野耕平、平井志伸、岡戸晴生、齊藤実

権利者：公益財団法人東京都医学総合研究所

種類：特許

番号：特願 2017-238899

出願年月日：平成 29 年 11 月 16 日

国内外の別：国内

名称：脳組織の異常を伴う非ヒト動物の作製方法およびその利用

発明者：平井志伸、岡戸晴生、松本良江

権利者：公益財団法人東京都医学総合研究所

種類：特許

番号：特願 2016-238899

出願年月日：平成 28 年 12 月 8 日

国内外の別：国内

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〕

<http://www.igakuken.or.jp>
<http://www.igakuken.or.jp/project/detail/differentiation.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岡戸 晴生 (OKADO, Haruo)
公益財団法人東京都医学総合研究所・脳発達
神経再生研究分野・プロジェクトリーダー
研究者番号：60221842

(2) 研究分担者

平井 志伸 (HIRAI, Shinobu)
公益財団法人東京都医学総合研究所・脳発達
神経再生研究分野・研究員
研究者番号：00625189

(3) 連携研究者

田中 謙二 (TANAKA, Kenji)
慶應義塾大学・生物学的精神医学・特任准教
授
研究者番号：30329700

(4) 研究協力者

なし