

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 4 月 18 日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24650198

研究課題名(和文) Toll様受容体を介した神経系 免疫系クロストークによる神経幹細胞制御機構の解明

研究課題名(英文) Regulation of neural stem cell through nervous- and immune-systems cross-talk

研究代表者

中島 欽一 (Nakashima, Kinichi)

九州大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：80302892

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円、(間接経費) 900,000円

研究成果の概要(和文)：成体海馬ニューロン新生は様々な要因の影響を受ける。例えばてんかんなどにより神経幹細胞の異常増殖が促進され、それにより異所性のニューロン新生が原因となり学習・記憶障害が誘発される。この研究では、この異常ニューロン新生を、本来生体は自然免疫分子として知られるTLR9のシグナル活性化により抑制しようとしていることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：It is known that the behavior of adult neural stem cells (aNSC) is strongly influenced by unique microenvironment surrounding aNSCs called niche. Acute epileptic seizures are classically known to be associated with aberrant augmentation of neurogenesis in the dentate gyrus (DG) in the adult hippocampus and migration of newly born neurons to ectopic locations. In this research, we found that TLR9, known as an innate immune receptor, suppresses epilepsy-triggered aberrant neurogenesis in the adult mouse DG. Microglia are known to act as inflammatory cells in epileptic conditions. When we inhibited seizure-induced microglial activation in WT mice by minocycline administration, both aberrant augmentation of neurogenesis and ectopic localization of newly generated neurons in the DG were exacerbated. These findings imply that TLR9 signal activation in microglia plays a critical role in the attenuation of epilepsy-triggered aberrant neurogenesis in the adult mouse DG.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：脳神経科学

キーワード：成体ニューロン新生 神経幹細胞 自然免疫

1. 研究開始当初の背景

神経幹細胞はニューロン及びアストロサイトやオリゴデンドロサイトへの多分化能を持った細胞である。また、成体脳における神経幹細胞からのニューロン新生は記憶・学習などに重要であるため、ニューロン新生制御機構の解明は注目を集めている。成体脳では神経幹細胞を取巻く微少環境によりその増殖や分化が大きな影響を受ける。これらのニッチ因子として、例えばアストロサイトから分泌されるWnt が神経幹細胞の多分化能維持に働くなどの報告がある。また我々は、成体脳海馬歯状回顆粒細胞下層で、神経幹細胞と神経系に存在する免疫系細胞(ミクログリア)が隣接し存在するという結果を得ており、ニッチにおける免疫系細胞とのクロストークによる神経幹細胞制御を考慮する必要があると考えている。中枢神経系に存在する免疫細胞ミクログリアの役割についてはこれまでに、損傷時あるいはウイルス感染時に活性化され神経保護に働くなどの報告がある。しかし、うつや記憶・学習への直接的な関与が指摘されつつある、成体脳ニューロン新生に対する影響についてはほとんど分かっていない。てんかんなどにより海馬では、ニューロン死が誘導されると同時に神経幹細胞の増殖・分化が攪乱され、物体認識記憶などに悪影響が観察されるが、作用機序は不明である。また、このニューロン死に呼応してミクログリアの活性化が見られるが、これに関して我々は、死細胞がミクログリアに貪食されると、死細胞含有核酸が自然免疫活性化で知られるTLRの内在性リガンドとして作用する可能性を考慮するに至った。

2. 研究の目的

本研究では、エンドソームに存在し、それぞれ一本鎖RNAおよびDNAをリガンドとするTLR7、TLR9の遺伝子欠損マウスを用い、*in vitro*と*in vivo*の両観点から神経-免疫系クロストークによる成体脳ニューロン新生制御機構の解明を目的とした。

3. 研究の方法

1. 成体ニューロン新生部位の1つ、海馬におけるTLR、TLR9発現細胞を免疫染色などで同定する。2. TLR7、TLR9遺伝子欠損マウスにてんかんを誘導し、神経幹細胞の動態を免疫染色で観察する。3. 各TLRリガンド刺激したミクログリア培養上清が神経幹細胞動態に与える影響を解析する。4. カイニン酸により細胞死を誘導したニューロンがTLR7、TLR9を介してミクログリアを活性化できるかを明らかにする。

4. 研究成果

まず、野生型と比較してTLR9遺伝子欠損マウスでは、てんかん発作依存的な異常なニューロン新生が増大することを明らかにした。しかしTLR7遺伝子欠損マウスではこの

ような異常は観察されなかった。従ってその後実験ではTLR9を対象を絞った。また、興味深いことに、TLR9は神経幹細胞と隣接して存在するミクログリアに発現していることがわかった。脳内の免疫担当細胞であるミクログリアは、てんかん発作後に活性化が認められるとともに炎症性サイトカインを産生することが報告されている。次に、活性化型ミクログリアの阻害剤であるミノサイクリンを用いて、野生型マウスにおけるてんかん発作依存的なミクログリアの活性化を抑制すると、異常ニューロン新生がさらに増大することを明らかにした。これらの結果は、ミクログリアのTLR9シグナルが微小環境構成因子の1つとして、てんかん誘導性異常ニューロン新生を抑制することにより、成体海馬ニューロン新生の恒常性を維持していることを示唆した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 6件)

1. Yi S.H., He X.B., Rhee Y.H., Park C.H., Takizawa T., Nakashima K. & Lee S.H. Foxa2 acts as a co-activator potentiating expression of the Nurr1-induced DA phenotype via epigenetic regulation. *Development* 141, 761-772 (2014).
2. Uesaka M., Nishimura O., Go Y., Nakashima K., Agata K. & Imamura T. Bidirectional promoters are the major source of gene activation-associated non-coding RNAs in mammals. *BMC Genomics* 15, 35 (2014).
3. Yuniarti N., Juliandi B., Muhchyi C., Noguchi H., Sanosaka T. & Nakashima K. Prenatal exposure to suberoylanilide hydroxamic acid perturbs corticogenesis. *Neurosci Res* 77, 42-49 (2013).
4. Urayama S., Semi K., Sanosaka T., Hori Y., Namihira M., Kohyama J., Takizawa T. & Nakashima K. Chromatin accessibility at a STAT3 target site is altered prior to astrocyte differentiation. *Cell Struct Func* 38, 55-66 (2013).
5. Namihira M. & Nakashima K. Mechanisms of astrocytogenesis in the mammalian brain. *Curr Opin Neurobiol* 23 921-927 (2013).
6. MuhChyi C., Juliandi B., Matsuda T. & Nakashima K. Epigenetic regulation of neural stem cell fate during corticogenesis. *Int J Dev Neurosci* 31 424-433 (2013).

[学会発表](計 39件)

<国内>

1. 中島欽一：抗てんかん薬バルプロ酸による神経幹細胞制御とその作用、第4回 Kyushu Neuroscience Conference、ANAク

- ラウンプラザホテル福岡、2014年4月4日(特別講演)
2. 野口浩史、木村文香、波平昌一、中島欽二 : DNA methyltransferase 1 regulates the development of dentate gyrus in the hippocampus、第7回神経発生討論会、大阪大学銀杏会館、2014年3月13日~14日(14日)(口頭)
 3. 本田瑞季、堅田明子、大國 紋、中島欽一 : 胎生期マウス神経幹細胞の増殖・分化制御に関するPRMTの同定とその機能解析、第7回神経発生討論会、大阪大学銀杏会館、2014年3月13日~14日(ポスター)
 4. 上坂将弘、西村 理、郷 康広、中島欽二、阿形清和、今村 拓 : ノンコーディングRNA群による遺伝子活性化と大脳皮質における多様化、第7回神経発生討論会、大阪大学銀杏会館、2014年3月13日~14日(ポスター)
 5. 中島欽一 : 抗てんかん薬バルプロ酸による神経幹細胞制御とその作用、第164回耳鼻咽喉科・頭頸部外科学術講演会、九州大学医学部百年講堂、2013年12月7日(特別講演)
 6. 中島欽一 : DNAメチル化による発生段階依存的神経幹細胞のアストロサイト分化能獲得機構、第36回日本分子生物学会、神戸国際会議場、2013年12月3日~6日(4日)(口頭)
 7. Chai Muh Chyi、佐野坂 司、Juliandi Berry、種村健太郎、五十嵐勝秀、中島欽二 : Developmental exposure of bisphenol A(BPA)causes brain region-specific abnormalities in mouse brain、第36回日本分子生物学会、神戸国際会議場、2013年12月3日~6日(4日)(ポスター)
 8. 松田泰斗、片野友貴、村尾直哉、Juliandi Berry、河合太郎、審良静男、中島欽一 : 自然免疫関連分子Toll様受容体を介したてんかん誘導性異常ニューロン新生抑制機構、第36回日本分子生物学会、神戸国際会議場、2013年12月3日~6日(3日)(ポスター)
 9. 中島欽一 : Effects of an HDAC inhibitor valproic acid on the development and regeneration in the central nervous system、The 23rd Hot Spring Harbor International Symposium、九州大学総合研究棟、2013年11月4日~6日(5日)(シンポジウム)
 10. 中島欽一 : DNAメチル化酵素を介した発生段階依存的な神経幹細胞の分化制御機構、大阪大学蛋白質研究所セミナー、大阪大学蛋白質研究所、2013年11月1-2日(2日)(セミナー)
 11. 辻村啓太、江頭良明、深尾陽一朗、藤原正幸、入江浩一郎、中嶋秀行、伊藤雅之、高森茂雄、中島欽一 : The Rett syndrome-associated protein MeCP2 regulates microRNA processing、2013年度 包括脳ネットワーク夏のワークショップ、名古屋国際会議場、2013年8月29日-9月1日(8月31日)(ポスター)
 12. 辻村啓太、江頭良明、深尾陽一朗、藤原正幸、入江浩一郎、中嶋秀行、伊藤雅之、高森茂雄、中島欽一 : Rett 症候群原因因子 MeCP2 による microRNA プロセッシングを介した神経機能制御、第5回 日本 RNAi 研究会、グランドプリンスホテル広島、2013年8月29日-31日(30日)(口頭)
 13. 入江浩一郎、辻村啓太、中嶋秀行、中島欽二 : MeCP2 は miR-199a のプロセッシングを介して軸索伸展を制御する、MeCP2 regulates axon outgrowth through processing of miR-199a、第5回日本 RNAi 研究会、広島県、グランドプリンスホテル広島、2013年8月29-31日(30日)(ポスター)
 14. 中嶋秀行、辻村啓太、入江浩一郎、中島欽一 : Rett症候群原因遺伝子MeCP2による神経幹細胞分化制御機構の解明、Functional analysis of MeCP2, the Rett syndrome responsible factor, in neural stem cells、第5回日本RNAi研究会、広島県、グランドプリンスホテル広島、2013年8月29-31日(ポスター)
 15. 中島欽一 : 抗てんかん薬バルプロ酸による神経幹細胞制御とその影響、第60回毒素シンポジウム、兵庫県 楓香荘、2013年7月17-19日(18日)(招待、口頭、特別講演)
 16. Juliandi Berry、種村健太郎、五十嵐勝秀、古川佑介、大塚まき、富永貴志、あべ松昌彦、佐野坂司、辻村啓太、菅野純、中島欽一 : Reduced adult neurogenesis and neuronal abnormalities in the hippocampus underlie cognitive deficiency following prenatal administration of the antiepileptic drug valproic acid、Neuro 2013 (第36回日本神経科学大会)、京都国際会館、2013年6月20-23日(22日)(口頭)
 17. 富永洋子、五十嵐勝秀、種村健太郎、菅野純、中島欽二、富永貴志 : バルプロ酸妊娠期投与による海馬神経回路の興奮-抑制バランスの破綻とVSD可視化解析、Disruption of the excitatory/inhibitory balance of hippocampal neural activity by prenatal valproic acid application: A goltage-sensitive dye imaging study、Neuro 2013 (第36回日本神経科学大会)、京都国際会館、2013年6月20-23日(22日)(ポスター)
 18. 堅田明子、佐野坂司、武藤哲司、中島欽一 : 神経幹細胞分化における発生期酸素濃度の影響とその分子機構、Impact of oxygen levels on fate switching of neural stem cells during

- corticogenesis, Neuro 2013 (第36回日本神経科学大会) 京都国際会館、2013年6月20-23日(22日)(口頭)
19. 富永貴志、富永洋子、五十嵐勝秀、種村健太郎、菅野純、中島欽一：神経回路動作の網羅的定量解析-バルプロ酸による神経回路動作変容の解明、Optical assay of abnormal neural circuit dynamics: Effect of prenatal exposure to valproic acid, Neuro 2013 (第36回日本神経科学大会) 京都国際会館、2013年6月20-23日(22日)(口頭)
 20. 中島欽一：抗てんかん薬バルプロ酸の神経系細胞分化及び再生に及ぼす影響、Effects of an antiepileptic valproic acid on the development and regeneration in the central nervous system, Neuro 2013 (第36回日本神経科学大会) 京都国際会館、2013年6月20-23日(22日)(口頭)
 21. 中島欽一：神経発達における化学物質誘発エピジェネティック障害とその改善法、第40回日本毒性学会学術年会、幕張メッセ、2013年6月17-19日(17日)(招待、口頭)
 22. 中島欽一：脳・神経系の機能を制御するエピジェネティクスとその作用機序、第102回日本病理学会総会、ロイトン札幌、2013年6月6-8日(8日)(招待、口頭)
 23. 入江浩一郎、中嶋秀行、辻村啓太、中島欽一：MeCP2標的miRNAによる神経幹細胞の分化制御機構の解明、第7回エピジェネティクス研究会年会、奈良県新公会堂、2013年5月30, 31日(ポスター、31日)
 24. 浜崎伸彦、阿形清和、中島欽一、今村拓也：プロモーターノンコーディングRNAによるマウス初期胚エピゲノム改変、第7回エピジェネティクス研究会年会、奈良県新公会堂、2013年5月30, 31日(ポスター、31日)
 25. 上坂将弘、西村理、中島欽一、阿形清和、今村拓也：プロモーターノンコーディングRNAによるほ乳類エピゲノム形成、第7回エピジェネティクス研究会年会、奈良県新公会堂、2013年5月30, 31日(ポスター、31日)
 26. 辻村啓太、江頭良明、深尾陽一郎、藤原正幸、入江浩一郎、中嶋秀行、高森茂雄、中島欽一：レット症候群原因遺伝子産物MeCP2によるmicroRNAプロセッシング制御、第7回エピジェネティクス研究会年会、奈良県新公会堂、2013年5月30, 31日(ポスター、31日)
 27. 五十嵐勝秀、大塚まき、古川佑介、森山紀子、中島欽一、種村健太郎、菅野純：発生-発達期ビスフェノールA曝露に伴う成長後のマウス脳DNAメチル化変化の網羅的解析、第7回エピジェネティクス研究会年会、奈良県新公会堂、2013年5月30, 31日(ポスター、30日)
 28. 村尾直哉、松田泰斗、古関明彦、波平昌一、中島欽一：ヘミメチル化DNA認識因子NP95/Uhrf1による成体海馬ニューロン新生制御メカニズムの解明、第7回エピジェネティクス研究会年会、奈良県新公会堂、2013年5月30, 31日(ポスター、30日)
 29. 中嶋秀行、辻村啓太、入江浩一郎、中島欽一：レット症候群原因因子MeCP2による神経幹細胞の分化制御機構の解明、第7回エピジェネティクス研究会年会、奈良県新公会堂、2013年5月30, 31日(ポスター、30日)
 30. 佐野坂司、三浦史仁、五十嵐勝秀、藤井信之、森山紀子、菅野純、池尾一穂、伊藤隆司、中島欽一：発生進行に伴う神経幹細胞のDNAメチル化変動と遺伝子発現解析、第7回エピジェネティクス研究会年会、奈良県新公会堂、2013年5月30, 31日(ポスター、30日)
 31. 野口浩史、波平昌一、佐野坂司、辻村啓太、深尾陽一郎、五十嵐勝秀、木村文香、中島欽一：神経幹細胞におけるDNAメチル化酵素DNMT1の機能解析、第7回エピジェネティクス研究会年会、奈良県新公会堂、2013年5月30, 31日(ポスター、30日)
 32. 木村文香、波平昌一、中島欽一：Dnmt1コンディショナルノックアウトマウスを用いた神経疾患との関連解析、第7回エピジェネティクス研究会年会、奈良県新公会堂、2013年5月30, 31日(ポスター、30日)
 33. 中島欽一：レット症候群原因因子MeCP2の新規作用とその神経系細胞における役割、第60回日本実験動物学会総会、2013年5月15日-17日(16日)(招待、口頭) つくば国際会議場
- < 国際 >
1. Chai, M., Juliandi, B., Sanosaka, T., Tanemura, K., Igarashi, K., Nakashima, K.: Brain-region specific developmental alterations in mouse prenatally and postnatally exposed to bisphenol A(BPA). NEUROSCIENCE 2013, San Diego, November 9-13, 2013
 2. Murao, N., Matsuda, T., Koseki, H., Namihira, M., Nakashima, K.: Analysis of mechanisms underlying neurogenesis in the adult hippocampus regulated by hemimethylated DNA recognition factor, Np95/Uhrf1. NEUROSCIENCE 2013, San Diego, November 9-13, 2013
 3. Nakashima, H., Tsujimura, K., Irie, K., Nakashima, K.: Functional analysis of MeCP2, the Rett syndrome responsible factor, in neural stem cells. NEUROSCIENCE 2013, San Diego, November 9-13, 2013
 4. Noguchi, H., Namihira, M., Sanosaka, T., Tsujimura, K., Fukao, Y., Igarashi, K.,

- Kimura, A., Nakashima, K.: Maintenance DNA methyltransferase DNMT1 controls neuronal differentiation of late-gestational neural stem cells. NEUROSCIENCE 2013, San Diego, November 9-13, 2013
5. Matsuda, T., Katano, Y., Adefuin, M, A., Murao, N., Juliandi, B., Kawai, T., Akira, S., Nakashima, K.: TLR9 signaling in microglia suppresses epilepsy-triggered aberrant neurogenesis in the adult hippocampus. NEUROSCIENCE 2013, San Diego, November 9-13, 2013
6. Nakashima, K.: Treatment of spinal cord injury by transplantation of neural stem cells. 2nd International spinal cord repair meeting, Barcelona, April 26-27, 2013 (oral)、招待

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

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〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中島 欽一 (46)

研究者番号：80302892