

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 18 日現在

機関番号：17401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25640023

研究課題名(和文) 大脳皮質の興奮性神経細胞と抑制性神経細胞の比率を維持する分子メカニズム

研究課題名(英文) Activin-A is a cell proliferation factor of the GABAergic neuron progenitors in the mouse neocortex

研究代表者

玉巻 伸章 (Tamamaki, Nobuaki)

熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・教授

研究者番号：20155253

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：人の大脳新皮質は、8割が興奮性神経細胞、2割が抑制性神経細胞によって構成されています。このような神経細胞の比率は、大脳新皮質が形成される際にその比率が決まります。それ故それぞれの神経細胞を産生するには、2種類の神経細胞が、お互いにその数を検出しながら比率を調整していると考えられます。その為には、2種類の神経細胞はお互いにその数を検出しなければならないと考えられます。つまり、神経細胞の産生は、神経細胞が放出する分子により調節されていると考えられます。おそらくその分子のひとつは、Activin Aであることが分かりました。

研究成果の概要(英文)：Neocortex is composed of 80% of excitatory neurons, and 20% of inhibitory neurons. The ratio of the neocortical neurons are determined when the cerebral neocortex is formed. Thus when the two types of neurons are produced, it is important to detect the ratio between the two types of neurons. To do this, the two types of neurons must detect the total number of each neurons. In other words, the production of neurons will be regulated by molecules that released from the two type of neocortical neurons. According to our speculation, one of the molecule is Activin-A.

研究分野：神経科学

キーワード：Activin A

1. 研究開始当初の背景

神経細胞は、様々な種類の細胞が織りなす回路であり、その各神経細胞の細胞数は、非常に重要なファクターであります。しかし世界中の研究者は、このポイントを解明しようとする研究者は居ませんでした。その様な中、玉巻は脳内の神経細胞自身が様々な細胞増殖因子を分泌していると考え、興奮性神経細胞が分泌する、Activin A に着目して研究を始めました。

2. 研究の目的

大脳新皮質の 80% は興奮性神経細胞であり、それぞれが興奮する度に細胞増殖因子を分泌することで、抑制性神経細胞の活性を高め、抑制性神経細胞の数を増やすようなものであれば、自然に興奮性神経細胞の過興奮を抑えられらるので、その様な細胞増殖因子を探しました。

3. 研究の方法

上記に有ります推測に従い、抑制性神経細胞は Activin A の受容体を細胞表面に発現し、Activin A が結合することで、抑制性神経細胞の活性を高めると考えました。また、抑制性神経前駆細胞であれば、Activin A が結合することで前駆細胞が細胞分裂を繰り返すと考えました。そこで、他の臓器で Activin A と結合する受容体を文献から探し、リストを作りました。更に、Method for single-cell microarray analysis and application to gene-expression profiling of GABAergic neuron progenitors. Esumi S, Wu SX, Yanagawa Y, Obata K, Sugimoto Y, Tamamaki N. *Neurosci Res.* 60(4): 439-451, 2008. にある手法で、単一の抑制性神経細胞の発現遺伝子を網羅的に探索して、Acvr1 という Activin A の受容体に行きつきました。

4. 研究成果

GAD67-GFP 胎児マウスの大脳新皮質から、GFP 陽性の抑制性神経細胞を Cell-sorter

で集めて、培養液中で増殖させる際に、Activin A を加えるか加えないかで、大きく抑制性神経細胞の増殖に影響することを明らかにしました。

高等脊椎動物の中樞神経は、多くの場合、一旦損傷を受けると再生することなく、機能障害も治癒することなく慢性化する。このような損傷を治療する目的で、embryonic stem (ES) cell や induced pluripotency stem (iPS) cell から神経細胞を分化させて、移植する試みがなされようとしている(非特許文献 1、2)。しかし、ES cell や iPS cell から神経細胞を分化させることができても、その数は少なく、ES cell や iPS cell と様々な神経系の細胞の混合物となる。移植のためには、特定の種の神経前駆細胞と神経細胞のみを準備することが重要であるが、抑制性神経細胞の場合においても難しく、これまでのところ純度の高い GABA 作動性神経前駆細胞と GABA 作動性神経細胞を得ることはできていない。

中樞神経系の神経細胞には興奮性の神経細胞と抑制性の神経細胞がある。両者の神経細胞が中樞神経の領域により異なる様々な比率で含まれていて、情報処理が行われている。大脳皮質では抑制性神経細胞は神経伝達物質として γ -aminobutyric acid (GABA) を使い、興奮性神経細胞は Glutamate を使う。大脳皮質の抑制性神経細胞は神経細胞の 20% 程度の比率で存在することにより、神経回路全体としては適度な活動度を維持することができ、スムーズな情報処理を営むことができる。しかしながら時として、全ての神経細胞が興奮し始め、結果として意識を失う癲癇発作が起きる。このような発作が起きる原因には、子供の間は脳の神経回路発達が未熟なために、発熱により神経細胞が興奮しやすくなって生じる熱性痙攣もあるが、多くは遺伝的背景があり、癲癇症患者の多くは、神経細胞の興奮に関わるチャンネル分子にポイント変異があり、興奮しやすくなっている

と考えられている。また細胞移動の分子メカニズムに異常がある場合には大脳皮質の灰白質部が二分してしまい、入出力関係がアンバランスになり、癲癇様発作を繰り返す場合もある。いずれの場合も、神経回路に生じたショート様の異常状態であり、過発火により多量のカルシウムが細胞体に流入することにより細胞死に至ることが考えられる。このようなショートの状態が起こるのを止める役目にある GABA 作動性神経細胞が特に過大な入力を受け、他の興奮性神経細胞よりも先に死滅して行く。このような状態になると難治性の癲癇発作のフォーカスと呼ばれ、フォーカスにある GABA 作動性神経細胞は激減していて、繰り返し癲癇発作の発祥元となる。このような状態にある難治性の癲癇症では治療薬では追いつかず、フォーカス領域を切除して癲癇発作の発生を抑える根治療法が行われる。しかし脳の一部を切除するため切除される脳が持っていた機能は失われる。このような癲癇発作フォーカスに GABA 作動性神経細胞前駆細胞を移植により供給して生着させることができたならば癲癇発作を抑えることが期待できる。この目的のために必要となる GABA 作動性神経細胞はどのようなものであってもいいのではなく、百を超える GABA 作動性神経細胞のサブタイプ内の、大脳皮質の興奮性の神経細胞の活動を抑えることのできる GABA 神経細胞でなければならない。例えば癲癇症の患者のフォーカスにはどのようなサブタイプの GABA 作動性神経細胞を移植すれば良いかと言えば、興奮性神経細胞が興奮するつどに、周りの興奮性神経細胞からの戻されてくる興奮性入力に対抗し抑制できる、細胞体部分に抑制を加えるバスケット細胞や軸索起始部に抑制を加えるシャンデリア細胞が必要となる。

現在までのところ人間の脳新皮質 GABA 作動性神経細胞の起源は十分に理解されていなかった。この出願の発明者はこれ

までに、げっ歯類の大脳皮質 GABA 作動性神経細胞の起源は大脳基底核原基に起源を持つことを発見し、1997 年に 11 月 1 日に報告している（非特許文献 3）。またこれとは別に、米国の Anderson S.も、1997 年に 10 月 27 日に同様の報告している（非特許文献 4）。しかし大脳基底核原基以外に起源が無いのかの点は確認されていなかった。そのような中、人間では GABA 作動性神経細胞の起源が大脳皮質にもあり、65%は大脳皮質で、35%は大脳基底核原基で作られるとする報告がある（非特許文献 5）。この報告にある 65%の大脳皮質由来の GABA 作動性神経細胞前駆細胞は、脳室帯ないし脳室下帯にある神経幹細胞の分裂により供給され、Mash1 陽性で特徴付けられると考えた。しかし、このような観察結果は、この出願の発明者のげっ歯類での GABA 作動性神経細胞の起源を調べた最新の研究での個々の観察結果と一部一致するものであるが、起源に関する解釈は発明者の解釈と大きく異なるものである。この出願の発明者のげっ歯類での研究によれば、GABA 作動性神経細胞の起源は大脳基底核原基にあり、大脳皮質に移動した GABA 作動性神経細胞の一部は前駆細胞に脱分化するか、大脳皮質に移動した GABA 含有細胞の一部は前駆細胞であり、大脳皮質で新たに GABA 作動性神経細胞を供給していると考えられる。人間の場合も、観察結果の同一性から考えて、大脳皮質の GABA 作動性神経前駆細胞と GABA 作動性神経細胞は、大脳基底核原基の細胞に由来すると考えられる。

このように、人 GABA 作動性神経前駆細胞と GABA 作動性神経細胞の由来も明らかになりつつあるが、未だ治療目的で移植するのに十分な量の GABA 作動性神経前駆細胞と GABA 作動性神経細胞を準備できる状況ではない。

なお、アクチビン A は、胚盤胞のころに、背腹軸や腎臓の形成に関わる物質としてよ

く知られ、腎臓形成のための分子（特許文献 1） GABA 作動性神経細胞の保護作用（特許文献 2）あるいはシナプス結合の可塑性の調節（特許文献 3）についてそれぞれ特許出願されている。しかしながらアクチビン A のこれらの作用はそれぞれは独立事象であり、アクチビン A がそれぞれの細胞に作用するために結合する受容体分子は異なる。また、アクチビン A が抑制性神経前駆細胞（GABA 作動性神経前駆細胞）を選択的かつ高効率に増殖させることは知られていない。

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 件）

本関係の研究は、最近始めた課題であり、直接関係する論文はまだありませんが、関連する論文としては、

Amygdala kindling induces nestin expression in the leptomeninges of the neocortex. Shogo Ninomiya, Shigeyuki Esumi, Kunimasa Ohta, Takaichi Fukuda, Tetsufumi Ito, Itaru Imayoshi, Ryoichiro Kageyama, Toshio Ikeda, Shigeyoshi Itohara, and Nobuaki Tamamaki Neurosci Res. 2013 75:121-129.

があります。

〔学会発表〕（計 0 件）
無し

〔図書〕（計 0 件）
無し

〔産業財産権〕
出願状況（計 1 件）

【発明の名称】抑制性神経前駆細胞の増殖培地

【技術分野】

この出願の発明は、抑制性神経前駆細胞を増殖させるための培養培地、抑制性神経細胞（GABA 作動性神経細胞）が欠落または減少した脳領域に投与して当該細胞数を回復させるために用いる溶液、さらには抑制性神経細胞が欠落または減少した脳領域において当該細胞数を回復させる方法に関

する。

【背景技術】
取得状況（計 0 件）

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者
玉巻 伸章 (Tamamaki Nobuaki)
熊本大学・大学院生命科学研究部・教授
研究者番号：20155253

(2) 研究分担者
()

無し
研究者番号：

(3) 連携研究者
()

無し
研究者番号：