

機関番号：17401

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008 ～ 2011

課題番号：20300121

研究課題名（和文）マウス胎児大脳皮質脳室下帯に見られる神経前駆細胞に関する研究

研究課題名（英文）Research on the intermediate progenitors of GABAergic neurons found in the subventricular zone of 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・教授

研究者番号：20155253

研究成果の概要（和文）：

胎児期から生後にかけて脳室下帯に見られる GAD67 陽性細胞の性質を調べた。同細胞は GAD67-GFP knock-in mouse で GFP 陽性で、さらに免疫細胞科学を用いて GABA, MAP2, TuJ1, double-cortin, NCAM 陽性であることも確かめた。しかし同時に細胞増殖マーカーである Ki-67 陽性で、BrdU を取り込み DNA 合成期にある細胞も存在することが明らかとなった。これらの増殖マーカーを発現する GFP 陽性細胞は、GABA 神経細胞を生み出す中間的な神経前駆細胞であると考えられた。GFP Cre-レポーター遺伝子を GAD67-Cre knockin mouse 胎児脳の内側基底核原基を含む領域に電気導入すると、多くの GFP 陽性の細胞が大脳皮質脳室下帯に現れ、それらの細胞の一部は Ki-67 陽性で、GAD67-GFP knock-in mouse で確認された増殖能力を持った GABA 神経前駆細胞と同じものであることが分かった。その結果、GABA 神経前駆細胞の起源は内側基底核原基にあることが確かめられた。さらに、Cre 依存的に鳥レトロウイルスのレセプターを発現させて、RCAS ウイルスを感染させて、GABA 神経前駆細胞が生み出す細胞のほとんどが神経細胞であることを示すことができた。このことにより、GABA 神経前駆細胞は主に神経細胞を生み出す、再生医療に利用すれば有効な細胞であることが分かった。

研究成果の概要（英文）：

In the embryonic neocortex, neuronal precursors are generated in the ventricular zone (VZ) and accumulate in the cortical plate. Recently, the subventricular zone (SVZ) of the embryonic neocortex was recognized as an additional neurogenic site for both principal excitatory neurons and GABAergic inhibitory neurons. To gain insight into the neurogenesis of GABAergic neurons in the SVZ, we investigated the characteristics of intermediate progenitors of GABAergic neurons (IPGNs) in mouse neocortex by immunohistochemistry, immunocytochemistry, single-cell RT-PCR, and single-cell array analysis. IPGNs were identified by their expression of some neuronal and cell cycle markers. Moreover, we investigated the origins of the neocortical IPGNs by Cre-loxP fate mapping in transgenic mice and the transduction of part of the telencephalic VZ by Cre-reporter plasmids, and found them in the medial and lateral ganglionic eminence. Therefore they must migrate tangentially within the telencephalon to reach the neocortex. Cell-lineage analysis by simple-retrovirus transduction revealed that the neocortical IPGNs self-renew and give rise to a small number of neocortical GABAergic neurons and a large number of granule and periglomerular cells in the olfactory bulb. IPGNs are maintained in the neocortex and may act as progenitors for adult neurogenesis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	6,400,000	1,920,000	8,320,000
2009年度	4,400,000	1,320,000	5,720,000
2010年度	4,400,000	1,320,000	5,720,000
年度			
年度			
総計	15,200,000	4,560,000	19,760,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：脳神経科学・神経解剖学／神経病理学

キーワード：①再生医学 ②神経科学 ③大脳皮質 ④神経前駆細胞 ⑤神経細胞

1. 研究開始当初の背景

哺乳類大脳皮質の神経細胞には、興奮性神経細胞と抑制性神経細胞があり、抑制性神経細胞の全ては大脳基底核原基より産生されて、接線方向への細胞移動により供給されると考えられていた。

2. 研究の目的

哺乳類大脳皮質の神経細胞が如何にして産生されて、必要数が準備され、種類ごとに必要な比率が達成される仕組みを理解することを目的としてきた。

3. 研究の方法

遺伝子操作を施したマウスを作成し、抑制性神経細胞を蛍光で生きたまま観察が可能なるようにして、実験を進めた。

4. 研究成果

大脳皮質に腹側から移動してくる細胞には、抑制性神経細胞以外に、抑制性神経細胞を生み出す、抑制性神経前駆細胞が含まれていることを明らかにした。

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14件) (全て査読有り)

① Watanabe K, Takebayashi H, Asim K, Bepari A K, Esumi S, Yanagawa Y, and Tamamaki N.

Dpy19L1, a multi-transmembrane protein, regulates radial migration of glutamatergic neurons in the developing cerebral cortex. Development 2011 (in press).

② Esumi S, Ninomiya S, Yanagawa Y, Higo S, and Tamamaki N. Intermediate progenitors of GABAergic neurons divide symmetrically to produce same-subtype GABAergic neuron pairs in the cortical plate of the mouse neocortex. Development 2011 (in press).

③ Wu S, Esumi S, Watanabe K, Chen J, Nakamura KC, Nakamura K, Kometani K, Minato N, Yanagawa Y, Akashi K, Sakimura K, Kaneko T, Tamamaki N, Tangential migration and proliferation of intermediate progenitors of GABAergic neurons in the mouse telencephalon. Development. 2011 138, 2499-2509.

④ Clancy B, Defelipe J, Espinosa A, Faire'n A, Jinno S, Kanold P, Luhmann HJ, Rockland KS, Tamamaki N, Yan XX. Cortical GABAergic Neurons: Stretching it Remarks, Main Conclusions and Discussion. Front Neuroanat. 2010 Mar 2;4:7.

⑤ Tamamaki N, Tomioka R. Long-Range GABAergic Connections Distributed throughout the Neocortex and their Possible Function. Front Neurosci. 2010 4: 202.

⑥Zhang S, Su Y, Shinmyo Y, Islam SM, Naser IB, Ahmed G, Tamamaki N, Tanaka H. Draxin, a repulsive axon guidance protein, is involved in hippocampal development. *Neurosci Res.* 2010 66: 53-61.

⑦Tanahira C, Higo S, Watanabe K, Tomioka R, Ebihara S, Kaneko T, Tamamaki N. Parvalbumin neurons in the forebrain as revealed by parvalbumin-Cre transgenic mice. *Neurosci Res.* 2009 Mar;63(3):213-23.

⑧ Wang YY, Wei YY, Huang J, Wang W, Tamamaki N, Li YQ, Wu SX. Expression patterns of 5-HT receptor subtypes 1A and 2A on GABAergic neurons within the spinal dorsal horn of GAD67-GFP knock-in mice. *J Chem Neuroanat.* 2009 38: 75-81.

⑨Higo S, Akashi K, Sakimura K, Tamamaki N. Subtypes of GABAergic neurons project axons in the neocortex. *Front Neuroanat.* 2009 3: 25.

⑩Esumi S, Wu SX, Yanagawa Y, Obata K, Sugimoto Y, Tamamaki N. Method for single-cell microarray analysis and application to gene-expression profiling of GABAergic neuron progenitors. *Neurosci Res.* 2008 60: 439-51.

⑪Basu K, Gravel C, Tomioka R, Kaneko T, Tamamaki N, Sik A. Novel strategy to selectively label excitatory and inhibitory neurons in the cerebral cortex of mice. *J Neurosci Methods.* 2008 170: 212-9.

⑫Yamamoto E, Tamamaki N, Nakamura T, Kataoka K, Tokutomi Y, Dong YF, Fukuda M, Matsuba S, Ogawa H, Kim-Mitsuyama S. Excess Salt Causes Cerebral Neuronal Apoptosis and Inflammation in Stroke-Prone Hypertensive Rats Through Angiotensin II-Induced NADPH Oxidase Activation. *Stroke.* 2008 39; 3049-56.

⑬Kaneko K, Tamamaki N, Owada H, Kakizaki T, Kume N, Totsuka M, Yamamoto T, Yawo H, Yagi T, Obata K, Yanagawa Y. Noradrenergic excitation of a subpopulation of GABAergic cells in the basolateral amygdala via both activation of nonselective cationic conductance and suppression of resting K⁺ conductance: A study using GAD67-GFP knock-in mice. *Neuroscience.* 2008 157: 781-97.

⑭Ide Y, Fujiyama F, Okamoto-Furuta K, Tamamaki N, Kaneko T, Hisatsune T. Rapid integration of young newborn dentate gyrus granule cells in the adult hippocampal circuitry. *Eur J Neurosci.* 2008 28: 2381-92.

[学会発表] (計3件)

①第34回 日本神経科学大会
Radial glia-like progenitors in
NEX-positive cell-lineage contribute
to the generation of mouse dentate gyrus
Nobuaki Tamamaki, Klaus-Armin Nave, and
Yukari Hiragami
2011.9.14~9.17 パシフィコ横浜

②第34回 日本神経科学大会

GABAergic neuron production in the mouse neocortex induced by amigdala kindling. Shogo Ninomiya, Tetsufumi Ito, Itaru Imayoshi, Ryoichiro Kageyama, Toshio Ikeda, Shigeyoshi Itoharu, Kaori Akashi, Kenji Sakimura and Nobuaki Tamamaki

2011.9.14～9.17 パシフィコ横浜

③第32回 日本神経科学大会

A possible new site for adult neurogenesis: GABA-neuron production in the parenchyma of the cerebral cortex of adult mice.

Shogo Ninomiya, Tetsufumi Ito Chiyoko Tanahira, Kaoru Akashi, Kenji Sakimura, and Nobuaki Tamamaki

2009.9.16～18 名古屋国際会議場

[産業財産権]

○出願状況 (計1件)

名称:「抑制性神経前駆細胞の増殖培地」
発明者:玉巻伸章 武 勝昔
権利者:熊本大学 JST
種類:特願
番号:特願 2010-212133
出願年月日:2010-9.22
国内外の別:国内

[その他]

ホームページ

<http://srv02.medic.kumamoto-u.ac.jp/dept/morneuro/>

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

(3)連携研究者

渡辺 啓介 (WATANABE KEISUKE)
大学院生命科学研究部・助教
研究者番号:20446264