

令和 2 年 6 月 15 日現在

機関番号：83902

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K07037

研究課題名(和文) 脳室下帯神経前駆細胞の産生調節と種間、領野間脳構築の調節機構

研究課題名(英文) Production of neural progenitors in the subventricular zone, and its regulations among species and brain area

研究代表者

田畑 秀典 (Tabata, Hidenori)

愛知県医療療育総合センター発達障害研究所・分子病態研究部・室長

研究者番号：80301761

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：ヒトは進化過程で巨大な脳を獲得し、高度な精神活動を可能にした。哺乳類大脳皮質神経細胞は脳室帯あるいは脳室下帯(SVZ)で産生されるが、ヒトを含めた霊長類ではSVZ内にbRGと呼ばれる特殊な神経幹細胞が著しく増加しており、圧倒的な神経細胞の産生を可能にしている。我々はbRGの産生調節に関わる分子としてJA1を同定した。本研究課題では(1) JA1はbRG産生の正の制御因子であること、(2) JA1はbRGそのものに発現すること、(3) JA1の霊長類における発現はマウスに比較して高く、これは転写調節領域の転写活性の違いによることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究課題では、ヒトの高度な精神活動の基盤となる巨大脳がいかに進化的に獲得されたかを探索した。先行研究では進化的にヒトで新たに獲得された遺伝子の関与が示唆されたが、本研究ではアミノ酸をコードしない転写調節領域の進化の重要性を解明した点でユニークである。また、本研究で注目したJA1転写調節領域にはヒトの小頭症原因遺伝子の結合配列があり、今後、神経発達障害の病態理解への貢献が期待される。

研究成果の概要(英文)：In the mammalian cerebral cortex, neurons are generated in the ventricular zone and subventricular zone (SVZ). One of the most striking features of fetal human brain is enlargement of SVZ, in which there are special neural progenitors called basal radial glia (bRG) and they are thought to contribute to produce enormous productions of cortical neurons and to acquire the huge brain. In this study, we have identified a gene, JA1, as a potential regulator of bRG production. We clarified (1) JA1 is a positive regulator of bRG production, (2) JA1 is expressed in the bRG itself, (3) and the transcription activity of human regulatory region of JA1 is higher than that of mouse. We identified the responsible region for this difference between human and mouse in intron #1-2. Given the amino acid sequences of JA1 are highly conserved among mammals, the evolution of regulatory region is thought to be a key to acquire the huge brain in human.

研究分野：神経発生学

キーワード：神経細胞移動 神経回路形成 神経発生 大脳皮質 神経幹細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

哺乳類大脳皮質発生過程において、皮質神経細胞は脳室に面した脳室帯 (VZ)、もしくはそれに隣接した脳室下帯 (SVZ) で誕生し、脳表面側へと移動する。我々は発生過程のマウス胎仔脳に高率かつ簡便に遺伝子導入を行う方法である子宮内電気穿孔法 (IUE) を開発し (Tabata, H. et al. 2001)、独自に開発した多点タイムラプスシステムを駆使して神経細胞の移動過程を詳細に観察してきた。我々は、VZ で誕生した皮質神経細胞のほとんどが多極性細胞を経る多段階的な移動様式をとることを明らかにした (Tabata, H. et al. 2003)。多極性細胞の多くは SVZ 下部に高密度に集積するため、この部位を多極性細胞蓄積帯 (MAZ) と呼ぶ (Tabata, H. et al. 2009)。また我々は、移動初期過程において MAZ に蓄積する集団 (slowly exiting population) SEP と MAZ に蓄積することなく SVZ 全体に広がり、分裂した後に多極性細胞へと変化して脳表層側へと移動を開始する集団 (rapidly exiting population) REP が存在することを報告した (Tabata, H. et al. 2009)。REP は長い上行性突起を有する単極性の形態をとり、SVZ 内で突起を退縮させて分裂する。さて霊長類の特にヒトにおける脳の発達は著しく、ヒトの高度な精神活動の基盤となっている。ヒト脳巨大化の一つの原因は、SVZ の発達による神経細胞産生の増加である。霊長類の SVZ はより表層側にある OSVZ と深層側にある ISVZ に分けられ、発生に従い、特に OSVZ が厚く発達する。ISVZ はこれを構成する細胞の核の形状から恐らく多極性細胞が主な構成要素である。最近になって、ヒト胎児脳 SVZ 細胞の動態が観察され、OSVZ には自己複製能を持つ (basal radial glia) bRG が多く存在することが観察された (Hansen, D.V. et al. 2010, Fietz, S.A. et al. 2010)。当初、bRG は霊長類に特異的な新しいタイプの神経幹細胞であるとされたが、bRG の長い上行性突起を持つ形態は、我々がマウスで観察していた REP と一致していた。すなわち、我々はヒトの脳巨大化は、ヒト固有の神経幹細胞 bRG が出現したためではなく、マウスにも存在する REP 相当細胞が進化過程で著しく数を増加させたためと考えた。また我々は、マウスの REP 産生は内側皮質 VZ に比して外側皮質 VZ で多いことを観察していた (Tabata, H. et al. 2009)。特に大脳基底核に隣接する pallial-subpallial boundary (PSB) においては高い頻度で REP を観察できる。このような脳領域の違いによる REP 産生調節機構を解明することは、ヒト脳の巨大化の遺伝的背景を知る重要な手がかりとなる。そこで申請者らはこうした違いを生み出す分子を探索するため、内側、及び外側皮質 VZ において発現強度に違いがある分子をマイクロアレイ法により探索し、外側で発現が高い遺伝子 29、内側で高い遺伝子 9 を得た (Tabata, H. et al. 2013)。この中に、マウス胎仔脳で REP 産生調節に関わる分子、すなわちヒトで脳巨大化に関わる遺伝子が含まれると考えられた。

2. 研究の目的

本研究課題では、得られた候補分子の中から REP 産生に影響する分子を同定する。さらにその機能解析とゲノム比較により、ヒト脳進化の分子的背景を探ることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 子宮内電気穿孔法によるスクリーニング

候補遺伝子に関して、子宮内電気穿孔法により、その発現ベクターを導入し、REP 産生に影響を及ぼす遺伝子の探索を行った。

(2) 候補分子の発現パターンを霊長類とマウスで比較した。

上記スクリーニングの結果、JA1 遺伝子が REP 産生を正に制御することが明らかとなった。霊長類のサンプルとして、佐々木えりか先生との共同研究でマーマセット胎児脳切片を用い、免疫染色により、JA1 タンパク質の発現パターンを観察し、マウス胎仔脳における発現と比較した。

(3) ルシフェラーゼアッセイによる発現調節領域の同定

ヒトとマウスの JA1 遺伝子転写調節領域による転写活性をルシフェラーゼアッセイにより定量し比較した。転写調節領域の様々な欠失、置換を行い、種間の違いをもたらす領域を探索した。

(3) トランスジェニックマウス作成

ヒトの転写調節領域でマウス JA1 を発現するトランスジェニックマウスの作成を試みた。

(4) ゲノム比較

JA1 遺伝子転写調節領域に関して、ヒトとマウスの生物情報学的比較を行い、その進化的意義を探索した。

4. 研究成果

本研究課題では、(1) ヒトで REP/bRG 相当細胞が増加し、巨大脳を獲得した原因遺伝子として JA1 を同定した。(2) JA1 は霊長類で強く発現し、特に SVZ における発現の広がりが顕著であった。(3) ヒトとマウスの JA1 の転写調節領域として転写開始点から上流 5k 塩基対、下流 2k 塩基対の領域を単離し、その転写活性をルシフェラーゼアッセイにより解析し、ヒトの転写調節領域はマウスに比べて 3 倍ほどの高い活性を持つことが観察された。(4) その違いをもたらす領域を探索した結果、下流側のイントロン 1~2 が重要であることが明らかとなった。(5) イントロン 1~2 の生物情報学的解析から、ヒトではこの領域は全体として CpG アイランドを形成し、転写調節因子が結合しやすい構造を形成しているが、マウスではこれがイントロン 1 に限局し、G-C 対の頻度も低かった。興味深いことに、ヒトではアミノ酸をコードするエキソン 2 もアミノ酸配列が変化しない塩基置換で G-C 対が増加しており、エキソン 2 も CpG アイランドの一部を形成して

いた。また(6)本研究課題では慶應義塾大学医学部実験動物センターとの共同研究で、ヒト転写調節領域でマウス JA1 を発現するトランスジェニックマウスを作成した。しかし、トランスジェニックの発現は確認できなかった。トランスジェニックベクターはエキソン 2 に JA1 発現カセットを入れ込んだが、前述の通り、エキソン 2 はアミノ酸をコードするとともに転写活性にも重要であることがその後判明し、CpG アイランドを寸断させてしまったことが原因と考えられる。本研究課題ではヒトの脳進化に関して重要な知見を明らかにした。これまでもヒトの脳進化に関する複数の先行研究があるが、これらはヒト特異的遺伝子に注目するものである。JA1 は動物界に広く保存されており、ショウジョウバエにも存在する。特にマウスとヒトではそのアミノ酸配列は 98%以上の相同性がある。しかし、転写調節領域は種間で大きく異なっており、本研究課題の際立った成果の一つは、転写調節領域の変化による進化のメカニズムの好例を示した点である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計17件（うち査読付論文 17件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Ito Hidenori, Morishita Rika, Mizuno Makoto, Tabata Hidenori, Nagata Koh-ichi	4. 巻 29
2. 論文標題 Rho family GTPases, Rac and Cdc42, control the localization of neonatal dentate granule cells during brain development	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Hippocampus	6. 最初と最後の頁 569 ~ 578
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/hipo.23047	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Noda Mariko, Iwamoto Ikuko, Tabata Hidenori, Yamagata Takanori, Ito Hidenori, Nagata Koh-ichi	4. 巻 9
2. 論文標題 Role of Per3, a circadian clock gene, in embryonic development of mouse cerebral cortex	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 5874
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-42390-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Komabayashi-Suzuki Mariko, Yamanishi Emiko, Watanabe Chisato, Okamura Megumi, Tabata Hidenori, Iwai Ryota, Ajioka Itsuki, Matsushita Jun, Kidoya Hiroyasu, Takakura Nobuyuki, Okamoto Tadashi, Kinoshita Kazuo, Ichihashi Masamitsu, Nagata Koh-ichi, Ema Masatsugu, Mizutani Ken-ichi	4. 巻 29
2. 論文標題 Spatiotemporally Dependent Vascularization Is Differently Utilized among Neural Progenitor Subtypes during Neocortical Development	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 1113 ~ 1129.e5
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2019.09.048	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Noda Mariko, Iwamoto Ikuko, Tabata Hidenori, Yamagata Takanori, Ito Hidenori, Nagata Koh-ichi	4. 巻 9
2. 論文標題 Role of Per3, a circadian clock gene, in embryonic development of mouse cerebral cortex	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1-11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-42390-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Komabayashi-Suzuki Mariko, Yamanishi Emiko, Watanabe Chisato, Okamura Megumi, Tabata Hidenori, Iwai Ryota, Ajioka Itsuki, Matsushita Jun, Kidoya Hiroyasu, Takakura Nobuyuki, Okamoto Tadashi, Kinoshita Kazuo, Ichihashi Masamitsu, Nagata Koh-ichi, Ema Masatsugu, Mizutani Ken-ichi	4. 巻 29
2. 論文標題 Spatiotemporally Dependent Vascularization Is Differently Utilized among Neural Progenitor Subtypes during Neocortical Development	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 1113 ~ 1129.e5
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2019.09.048	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nakanishi Keiko, Niida Hiroyuki, Tabata Hidenori, Ito Tsuyoshi, Hori Yuki, Hattori Madoka, Johmura Yoshikazu, Yamada Chisato, Ueda Takashi, Takeuchi Kosei, Yamada Kenichiro, Nagata Koh-ichi, Wakamatsu Nobuaki, Kishi Masashi, Pan Y Albert, Ugawa Shinya, Shimada Shoichi, Sanes Joshua R, Higashi Yujiro, Nakanishi Makoto	4. 巻 160
2. 論文標題 Isozyme-Specific Role of SAD-A in Neuronal Migration During Development of Cerebral Cortex	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cerebral Cortex	6. 最初と最後の頁 721
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/cercor/bhy253	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ito Hidenori, Morishita Rika, Mizuno Makoto, Kawamura Noriko, Tabata Hidenori, Nagata Koh-ichi	4. 巻 40
2. 論文標題 Biochemical and Morphological Characterization of a Neurodevelopmental Disorder-Related Mono-ADP-Ribosylhydrolase, MACRO Domain Containing 2	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Developmental Neuroscience	6. 最初と最後の頁 278 ~ 287
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000492271	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ibaraki Kyoko, Mizuno Makoto, Aoki Hitomi, Niwa Ayumi, Iwamoto Ikuko, Hara Akira, Tabata Hidenori, Ito Hidenori, Nagata Koh-ichi	4. 巻 51
2. 論文標題 Biochemical and Morphological Characterization of a Guanine Nucleotide Exchange Factor ARHGEF9 in Mouse Tissues	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 ACTA HISTOCHEMICA ET CYTOCHEMICA	6. 最初と最後の頁 119 ~ 128
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1267/ahc.18009	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Iwai Ryota, Tabata Hidenori, Inoue Mayuko, Nomura Kei-ichiro, Okamoto Tadashi, Ichihashi Masamitsu, Nagata Koh-ichi, Mizutani Ken-ichi	4. 巻 495
2. 論文標題 A Prdm8 target gene Ebf3 regulates multipolar-to-bipolar transition in migrating neocortical cells	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 388 ~ 394
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2017.11.021	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ishizuka Kanako, Tabata Hidenori, Ito Hidenori, Kushima Itaru, Noda Mariko, Yoshimi Akira, Usami Masahide, Watanabe Kyota, Morikawa Mako, Uno Yota, Okada Takashi, Mori Daisuke, Aleksic Branko, Ozaki Norio, Nagata Koh-ichi	4. 巻 96
2. 論文標題 Possible involvement of a cell adhesion molecule, Migfilin, in brain development and pathogenesis of autism spectrum disorders	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Neuroscience Research	6. 最初と最後の頁 789 ~ 802
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jnr.24194	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hamada Nanako, Iwamoto Ikuko, Tabata Hidenori, Nagata Koh-ichi	4. 巻 5
2. 論文標題 MUNC18-1 gene abnormalities are involved in neurodevelopmental disorders through defective cortical architecture during brain development	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Acta Neuropathologica Communications	6. 最初と最後の頁 92
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s40478-017-0498-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Oshikawa Mio, Okada Kei, Tabata Hidenori, Nagata Koh-ichi, Ajioka Itsuki	4. 巻 144
2. 論文標題 Dnmt1-dependent Chk1 pathway suppression is protective against neuron division	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Development	6. 最初と最後の頁 3303 ~ 3314
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1242/dev.154013	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Honda Atsuko, Ito Yasuyuki, Takahashi-Niki Kazuko, Matsushita Natsuki, Nozumi Motohiro, Tabata Hidenori, Takeuchi Kosei, Igarashi Michihiro	4. 巻 37
2. 論文標題 Extracellular Signals Induce Glycoprotein M6a Clustering of Lipid Rafts and Associated Signaling Molecules	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 The Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 4046 ~ 4064
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/JNEUROSCI.3319-16.2017	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Goto, M., Mizuno, M., Matsumoto, A., Yang, Z., Jimbo, E.F., Tabata, H., Yamagata, T., Nagata, K.-I.	4. 巻 7
2. 論文標題 Role of a circadian-relevant gene NR1D1 in brain development: possible involvement in the pathophysiology of autism spectrum disorders.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 43945
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/srep43945	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Inoue M, Iwai R, Tabata H, Konno D, Komabayashi-Suzuki M, Watanabe C, Iwanari H, Mochizuki Y, Hamakubo T, Matsuzaki F, Nagata K-I, Mizutani K-I	4. 巻 144
2. 論文標題 Prdm16 is crucial for progression of the multipolar phase during neural differentiation of the developing neocortex.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Development	6. 最初と最後の頁 385-399
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1242/dev.136382	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hamada, N., Negishi, Y., Mizuno, M., Miya, F., Hattori, A., Okamoto, N., Kato, M., Tsunoda, T., Yamasaki, M., Kanemura, Y., Kosaki, K., Tabata, H., Saitoh, S., Nagata, K.-I.	4. 巻 140
2. 論文標題 Role of a heterotrimeric G-protein, Gi2, in the corticogenesis: possible involvement in periventricular nodular heterotopia and intellectual disability.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 J. Neurochem.	6. 最初と最後の頁 82-95
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jnc.13878	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hamada N, Ito H, Nishijo T, Iwamoto I, Morishita R, Tabata H, Momiyama T, Nagata K-I	4. 巻 6
2. 論文標題 Essential role of the nuclear isoform of RBFox1, a candidate gene for autism spectrum disorders, in the brain development.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 30805
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/srep30805	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計9件(うち招待講演 5件/うち国際学会 1件)

1. 発表者名 田畑秀典、八谷 剛史、下田耕治、林 周宏、永田 浩一、榊原 康文、仲嶋 一範
2. 発表標題 幹細胞性を司る遺伝子の転写活性によるヒト脳巨大化への役割
3. 学会等名 第42回日本神経科学大会 / 第62回日本神経化学学会大会 (Neuro2019)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hidenori Tabata, Tsuyoshi Hachiya, Kouji Shimoda, Kanehiro Hayashi Koh-ichi Nagata, Yasubumi Sakakibara, Kazunori Nakajima
2. 発表標題 Possible role of the evolutionary changes in the transcriptional activity to acquire the huge brain in humans
3. 学会等名 Neuro2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田畑秀典、八谷 剛史、林 周宏、永田 浩一、榊原 康文、仲嶋 一範
2. 発表標題 大脳皮質神経細胞の産生調節機構と、その進化 ~マウスとヒトのゲノム配列を用いた機能解析
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 田畑秀典
2. 発表標題 Migration of astrocyte progenitors and its relationship with blood vessels in the developing cerebral cortex.
3. 学会等名 第10回NAGOYAグローバルリトリート（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 田畑秀典
2. 発表標題 哺乳類大脳皮質発生過程におけるアストロサイト前駆細胞の移動と血管化
3. 学会等名 生命科学系学会合同年次大会（ConBio2017）ワークショップ（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 田畑秀典
2. 発表標題 子宮内電気穿孔法とライブイメージングを用いた大脳皮質発生機構の解析
3. 学会等名 第39回神経組織培養研究会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 田畑秀典
2. 発表標題 アストロサイト前駆細胞の移動過程における血管の役割
3. 学会等名 第2回Neuro-Vascular研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 田畑秀典
2. 発表標題 大脳皮質発生過程における2次的神経細胞産生部位としての脳室下帯の成り立ちと脳進化 との関連
3. 学会等名 日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Tabata H, Sasaki M, Inaguma Y, Ito H, Takebayashi H, Ema M, Ikenaka K, Nagata K, Nakajima K
2. 発表標題 Erratic migration: a unique migratory behavior of astrocyte progenitors.
3. 学会等名 Neuroscience 2016（国際学会）
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考