

令和 3 年 7 月 12 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K14622

研究課題名（和文）HMGA2による神経幹細胞の増殖期からニューロン分化期への移行メカニズム解明

研究課題名（英文）Elucidation of the mechanism of HMGA2-induced transition of neural stem cells from expansion to neurogenic phase

研究代表者

岸 雄介（Kishi, Yusuke）

東京大学・大学院薬学系研究科（薬学部）・講師

研究者番号：00645236

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：脳で最も重要な素子であるニューロンのほとんどは発生期に神経幹細胞から産生される。神経幹細胞は、発生初期には自己複製を繰り返してその数を増やすが、あるタイミングでニューロン産生を開始する。この運命転換のタイミングは、その後に産み出されるニューロンの数を制御するため、厳密に制御される必要がある。しかし、その制御メカニズムはこれまで不明であった。本研究では、増殖期からニューロン分化期にかけてHmga2というクロマチン制御因子の発現が上昇することで、神経幹細胞の遺伝子発現パターンを変化させ、運命転換を促す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

神経幹細胞の増殖期からニューロン分化期への運命転換の異常は、成体脳のニューロンやその他の細胞の数の異常につながる。実際に、この運命転換の異常が自閉症などの神経発達障害の原因の一つであると考えられている。本研究ではこの運命転換のメカニズムとしてHmga2による制御が重要であることを明らかにした。そのため、本研究をもとに神経幹細胞の運命転換のメカニズム、ひいてはヒトの神経発達障害の理解につながると期待される。

研究成果の概要（英文）：Most of the neurons, the most important cell types in the brain, are produced from neural stem cells during development. In the early stages of development, neural stem cells increase their number by self-renewal, but at a certain point, they begin to produce neurons. The timing of this fate change should be strictly regulated because it determines the number of neurons that are subsequently produced. However, the regulatory mechanism has been unknown. In this study, we found that the upregulation of Hmga2, a chromatin-regulating factor, during the transition from expansion to neurogenic phases regulates the gene expression pattern of neural stem cells and promotes fate switching.

研究分野：分子生物学

キーワード：神経幹細胞 クロマチン Hmga2

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

脳の高次機能をつかさどる大脳新皮質の幹細胞である神経幹細胞は、発生時期依存的にその性質を大きく変化させることが知られている。発生早期においては、盛んに増殖を繰り返すことで神経幹細胞の数を増やし(増殖期)、発生中期にはニューロンを産生する(ニューロン分化期)。その後、発生後期になるとニューロンは産生なくなりアストロサイトなどのグリア細胞を産生する(グリア分化期; 図1)。この神経幹細胞の運命転換のタイミングを制御することは、最終的な脳の大きさや機能を決定するため、厳密に決定される必要がある。例えば、増殖期からニューロン分化期への移行のタイミングが遅くなると、神経幹細胞の数が過剰になって脳は異常に大きくなると考えられる。しかしながら、現在までに神経幹細胞の増殖期からニューロン分化期への移行メカニズムはほとんど明らかにされていない。

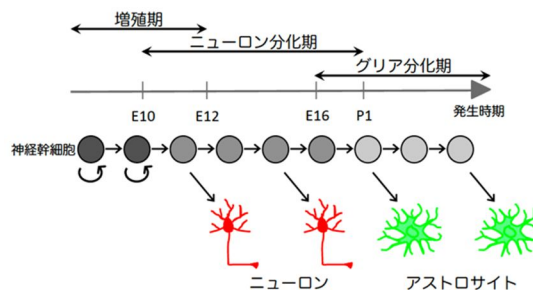


図1. 神経幹細胞の性質は発生時期依存的に変化する

神経幹細胞の運命転換のタイミングを制御することは、最終的な脳の大きさや機能を決定するため、厳密に決定される必要がある。例えば、増殖期からニューロン分化期への移行のタイミングが遅くなると、神経幹細胞の数が過剰になって脳は異常に大きくなると考えられる。しかしながら、現在までに神経幹細胞の増殖期からニューロン分化期への移行メカニズムはほとんど明らかにされていない。

2. 研究の目的

本研究では、Hmga2 やポリコーム群タンパク質 (PcG) をはじめとしたクロマチン因子に着目し、ニューロン分化能獲得メカニズムを明らかにすることによって、「幹細胞がどのようにして分化を始めるか」という幹細胞研究の根幹をなす問いに一つの答えを与えることを目指す。

3. 研究の方法

- Hmga2 や PcG といったクロマチン因子が神経幹細胞の増殖期からニューロン分化期への移行において果たす役割を、子宮内電気穿孔法を用いた in vivo での遺伝子操作実験や、初代培養神経幹細胞を用いた in vitro での実験を通じて明らかにした。
- Hmga2 や PcG といったクロマチン因子による神経幹細胞の増殖期からニューロン分化期への移行を制御するメカニズムを、RNA-seq、ChIP-seq などの網羅的解析から明らかにした。

4. 研究成果

本研究ではまず、PcG による神経幹細胞の運命制御メカニズムを解析した。Neurog1 などのニューロン分化関連遺伝子は、ニューロン分化期神経幹細胞では分化刺激に応答して転写できる「一過的な」抑制状態にあるが、アストロサイト分化期になると応答できない「永続的な」抑制状態に変化する。興味深いことにこれまで我々を含む複数のグループが PcG と呼ばれるエピジェネティック制御因子が、「一過的な」抑制状態と「永続的な」抑制状態の両方に重要なことを示してきた。

私はこの PcG の異なる機能の使い分けメカニズムを明らかにするために、PcG の必須構成因子の Ring1 タンパク質のユビキチン化活性に着目した。そして世界で初めてユビキチン化活性を全く持たない Ring1 を作製することで、Ring1 のユビキチン化活性はニューロン分化関連遺伝子の「一過的な」抑制には必要だが、アストロサイト分化期の「永続的な」抑制には必要ないことがわかった (Tsuboi#, Kishi#* et al., *Dev. Cell*, 2018)。代わりに、「永続的な」抑制には PcG 複合体のクラスタリングによるクロマチン凝集が重要なことがわかった。

発生関連遺伝子の「一過的な」抑制と「永続的な」抑制の使い分けは、「Waddington landscape」モデルにおける幹細胞の分化能の制御の本質である。PcG は多くの他の組織幹細胞でも分化関連遺伝子の抑制に関わることから、本研究の結果は幹細胞の普遍的な能力の制御メカニズムであると期待している。

次に、神経幹細胞のニューロン分化能を司ることが分かっていたクロマチン因子 Hmga2 の役割を解析した。まず、Hmga2 の下流遺伝子をマイクロアレイ法により解析したところ、Plag1 という転写因子をコードする遺伝子座に Hmga2 が直接結合し、発現上昇させてことがわかった (Sakai#, ..., Kishi#*, *Genes Cells*, 2019)。また、Plag1 の機能解析を実施したところ Plag1 は神経幹細胞のニューロン分化能に重要な新規制御因子であることを明らかにした。すなわち、Hmga2 は Plag1 の発現亢進を介して神経幹細胞のニューロン分化能を制御していることがわかった。

さらに、Hmga2 の増殖期からニューロン分化期への転換における役割を解析するために、増殖期神経幹細胞への新規遺伝子導入法を開発した (Kuwayama, Kishi#* et al., *bioRxiv*, 2020)。この手法を用いて Hmga2 をノックダウンしたところ、増殖期からニューロン分化期への転換が抑制されることを明らかにした。すなわち、Hmga2 が増殖期からニューロン分化期への転換を促進する因子であることを示している。

また、本研究を含めて世界で行われている神経発生におけるクロマチン因子の重要性を、特に

3次元クロマチン構造に着目して最新の知見をまとめ紹介する総説論文を発表した (Kishi* and Gotoh, *Front. Neurosci.*, 2018)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14件（うち査読付論文 9件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Naoyuki Senda, Hideyuki Yanai, Sana Hibino, Lei Li, Yu Mizushima, Tomomitsu Miyagaki, Mai Saeki, Yusuke Kishi, Sho Hangai, Junko Nishio, Makoto Sugaya, Tadatsugu Taniguchi, and Shinichi Sato	4. 巻 118
2. 論文標題 Protective role of HMGB1 in keratinocytes in skin inflammation by maintaining chromatin modification	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Proc. Natl. Acad. Sci. USA	6. 最初と最後の頁 e2022343118
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2022343118	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 Shun Utsunomiya#, Yusuke Kishi#, Masafumi Tsuboi, Daichii Kawaguchi, Yukiko Gotoh, Manabu Abe, Kenji Sakimura, Kazuma Maeda, and Hiroshi Takemoto (#Equal contribution)	4. 巻 -
2. 論文標題 Ezh1 regulates expression of Cpg15/Neuritin in mouse cortical neurons	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Drug Discoveries & Therapeutics	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5582/ddt.2021.01017, 2021	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 Yasuhiro Fujiwara, Yuji Tanno, Hiroki Sugishita, Yusuke Kishi, Yoshinori Makino, and Yuki Okada	4. 巻 -
2. 論文標題 Preparation of "stress-free" concanavalin A-conjugated Dynabeads magnetic beads for CUT&Tag	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 bioRxiv	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1101/2021.04.04.438416	査読の有無 無
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 Hikaru Eto#, Yusuke Kishi#*, Nayuta Yakushiji-Kaminatsu, Hiroki Sugishita, Shun Utsunomiya, Haruhiko Koseki, and Yukiko Gotoh* (#Equal contribution, *Correspondence)	4. 巻 11
2. 論文標題 The Polycomb group protein Ring1 regulates dorsoventral patterning of the mouse telencephalon.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 5709
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-020-19556-5	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 Kenichiro Nagahama, Kazuto Sakoori, Takaki Watanabe, Yusuke Kishi, Keita Kawaji, Michinori Koebis, Kazuki Nakao, Yukiko Gotoh, Atsu Aiba, Naofumi Uesaka*, and Masanobu Kano*	4. 巻 15;32(11)
2. 論文標題 Setd1a Insufficiency in Mice Attenuates Excitatory Synaptic Function and Recapitulates Schizophrenia-related behavioral abnormalities	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 108126
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2020.108126	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 Takumi Nakagawa, Yoshikuni Wada, Sayako Katada* and Yusuke Kishi* (*Correspondence)	4. 巻 -
2. 論文標題 Epigenetic regulation for acquiring glial identity by neural stem cells during cortical development	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 GLIA	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/glia.23818	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 Naohiro Kuwayama, Yusuke Kishi*, Yurie Maeda, Yurie Nishiumi, Yutaka Suzuki, Haruhiko Koseki, Yusuke Hirabayashi, Yukiko Gotoh (*Correspondence)	4. 巻 -
2. 論文標題 In utero gene transfer system for embryos before neural tube closure reveals a role for Hmga2 in the onset of neurogenesis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 bioRxiv	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1101/2020.05.14.086330	査読の有無 無
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 岸雄介	4. 巻 第92巻第5号
2. 論文標題 HMGAタンパク質の生理機能の生化学的基盤	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 生化学	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14952/SEIKAGAKU.2020.920695	査読の有無 無
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 岸雄介	4. 巻 -
2. 論文標題 先進ゲノム支援を活用した神経幹細胞のクロマチン制御の解析	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 羊土社, 実験医学別冊 最強のステップUPシリーズ『最先端クロマチン解析プロトコル』	6. 最初と最後の頁 168-171
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 Hashimoto Keisuke, Yamaguchi Yoshifumi, Kishi Yusuke, Kikko Yorifumi, Takasaki Kanako, Maeda Yurie, Matsumoto Yudai, Oka Miho, Miura Masayuki, Ohata Shinya, Katada Toshiaki, Kontani Kenji	4. 巻 24
2. 論文標題 Loss of the small GTPase Arl8b results in abnormal development of the roof plate in mouse embryos	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 436 ~ 448
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.12687	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 Sakai Hiroshi, Fujii Yuki, Kuwayama Naohiro, Kawaji Keita, Gotoh Yukiko, Kishi Yusuke	4. 巻 24
2. 論文標題 Plag1 regulates neuronal gene expression and neuronal differentiation of neocortical neural progenitor cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 650 ~ 666
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.12718	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 Nakagawa Takumi, Wada Yoshikuni, Katada Sayako, Kishi Yusuke	4. 巻 -
2. 論文標題 Epigenetic regulation for acquiring glial identity by neural stem cells during cortical development	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Glia	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/glia.23818	査読の有無 無
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 Masafumi Tsuboi, Yusuke Kishi, Wakana Kyojuka, Haruhiko Koseki, Yusuke Hirabayashi, and Yukiko Gotoh*	4. 巻 47
2. 論文標題 Ubiquitination-independent repression of PRC1 targets during neuronal fate restriction in the developing mouse neocortex	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Developmental Cell	6. 最初と最後の頁 758-772
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.devcel.2018.11.018	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 Yusuke Kishi and Yukiko Gotoh	4. 巻 12
2. 論文標題 Regulation of Chromatin Structure During Neural Development	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Frontiers in Neuroscience	6. 最初と最後の頁 874
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnins.2018.00874	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10件 (うち招待講演 9件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 岸雄介、坂井星辰、川路啓太、後藤由季子
2. 発表標題 ニューロン分化過程におけるクロマチン構造変化の役割
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岸雄介
2. 発表標題 神経幹細胞にニューロン分化能を賦与するエピジェネティック・クロマチン制御機構の解明
3. 学会等名 第14回日本エピジェネティクス研究会年会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yusuke Kishi
2. 発表標題 Chromatin regulation during neuronal maturation
3. 学会等名 Wellcome Trust Workshop on Neuronal Maturation (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yusuke Kishi
2. 発表標題 Chromatin regulation during neural development
3. 学会等名 Chromatin regulation during neural development” The 97th Annual meeting of Physiological Society of Japan (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岸雄介
2. 発表標題 神経幹細胞にニューロン分化能を賦与するクロマチン制御機構の解明
3. 学会等名 第92回日本生化学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yusuke Kishi, Masafuji Tsuboi, Naohiro Kuwayama, Yusuke Hirabayashi, Yukiko Gotoh
2. 発表標題 Chromatin regulation during neural development
3. 学会等名 IQB Mini Symposium “Chromatin: from Structure to Physiology” (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岸雄介
2. 発表標題 神経幹細胞の増殖期からニューロン分化期への転換
3. 学会等名 第346回熊本大学発生源セミナー（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岸雄介、木下隆太、後藤由季子
2. 発表標題 神経発生におけるペリセントロメア領域の役割
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 Yusuke Kishi, Hikaru Eto, Haruhiko Koseki and Yukiko Gotoh
2. 発表標題 Chromatin regulation of neural stem cell fate during neocortical development
3. 学会等名 2018 Joint Meeting between The Neurodevelopmental Biology Section of The Korean Society for Molecular and Cellular Biology and Japanese Developmental Neuroscientists（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yusuke Kishi, Masafuji Tsuboi, Naohiro Kuwayama, Yusuke Hirabayashi, Yukiko Gotoh
2. 発表標題 Chromatin regulation of neural stem cell fate during neocortical development
3. 学会等名 International Society for Developmental Neuroscience (ISDN) 2018 in Nara（国際学会）
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Soichiro Yamanaka, Yusuke Kishi and Haruhiko Shiomi	4. 発行年 2020年
2. 出版社 Elsevier	5. 総ページ数 17
3. 書名 Epigenetics Methods	

〔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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------