

様 式 F-7-2

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）実績報告書（研究実績報告書）

1. 機関番号

1

4

6

0

3

2. 研究機関名

奈良先端科学技術大学院大学

3. 研究種目名

挑戦的萌芽研究

4. 補助事業期間

平成23年度～平成24年度

5. 課題番号

2

3

6

5

0

2

1

5

6. 研究課題

ゲノムDNA化学修飾のニューロン発達における機能解明

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
60379534	ナミヒラ マサカズ 波平 昌一	バイオサイエンス研究科	助教

8. 研究分担者

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名

9. 研究実績の概要

精神疾患発症やストレス応答脆弱性に、神経細胞（ニューロン）におけるゲノムDNAメチル化の関与が指摘され、さらにニューロンにおいて新たにヒドロキシメチル化というゲノム修飾が発見されるなど、脳・神経系におけるDNA化学修飾機構についての研究は、近年世界的に注目を集めている。そこで、本研究では、ニューロンの発達におけるDNA化学修飾の意義と、その酵素群の機能解析を行うことを目的とした。

まず、ニューロン発達におけるDNA化学修飾酵素の役割を解析した。shRNAの発現によるDNAメチル化酵素Dnmt1のノックダウン（KD）、又は過剰発現を誘導し、ニューロンの形態の変化の有無を観察した。その結果、DNMTの発現変動により軸索伸長が変化することがわかった。また、メチル化活性を持たない変異型DNMT1を過剰発現させたニューロンにおいても、同様の軸索伸長の抑制効果が観られたことから、DNMT1はメチル化活性非依存的に、ニューロン軸索伸長を制御する機能を持つ可能性が示唆された。また、DNMT1欠損ニューロン由来の培養上清を用いた培養においては、野生型ニューロンの軸索伸長がより促進されたことから、DNMT1KDによる軸索伸長の促進は、培養液中に産生する細胞外因子によるものであることを示唆した。更なる実験の結果、DNMT1が、ニューロンの軸索伸長に関わるTrk受容体のTrkBとTrkCの活性化調節を介して軸索伸長を制御することを示唆している。

次に、ニューロン特異的にDNMT1が欠損したCKOマウスを用いて行動解析を行い、精神疾患とDNMT1の発現との関連を調べた。その結果、その結果、オープンフィールド試験において、cKOマウスが不安様行動を示すことがわかった。これらの結果は、非分裂生のニューロンにおいてもDNMT1がその機能を発揮し、ニューロンの発達と活動を制御していることを示している。

10. キーワード

(1) ニューロン

(2) 発達

(3) DNAメチル化

(4) エピジェネティクス

(5) DNAヒドロキシメチル化

(6)

(7)

(8)

11.研究発表

[雑誌論文] 計(3)件 うち査読付論文 計(3)件 (最終年度分)

著 者 名		論 文 標 題 【掲載確定】						
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.						
雑 誌 名		査読の有無	巻	発行年			最初と最後の頁	
Cell Structure and Function		有	38	2	0	1	3	55-66
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)								
なし								

著 者 名		論 文 標 題				
Wu Z, Huang K, Yu J, Le T, Namihira M, Liu Y, Zhang J, Xue Z, Cheng L, Fan G.		Dnmt3a regulates both proliferation and differentiation of mouse neural stem cells.				
雑 誌 名		査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁
Journal of Neuroscience Research		有	90	2	0 1 2	1883-1891
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)						
10.1002/jnr.23077.						

著 者 名		論 文 標 題				
Fujimoto Y, Abematsu M, Falk A, Tsujimura K, Sanosaka T, Juliandi B, Semi K, Namihira M, Komiya S, Smith A, Nakashima K.		Treatment of a mouse model of spinal cord injury by transplantation of human induced pluripotent stem cell-derived long-term self-renewing neuroepithelial-like stem cells.				
雑 誌 名		査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁
Stem Cells		有	30	2	0 1 2	1163-1173
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)						
10.1002/stem.1083.						

[学会発表] 計(11)件のうち招待講演 計(1)件 (最終年度分)

発表者名	発表標題	
Fujimoto, Y., Abematsu, M., Falk, A., Tsujimura, K., Sanosaka, T., Juliandi, B., Semi, K., Namihira, M., Komiya, S., Smith, A., Nakashima, K.	Treatment of a mouse model of spinal cord injury by transplantation of human iPS cell-derived long-term self-renewing neuroepithelial-like stem cells	
学会等名	発表年月日	発表場所
NEUROSCIENCE 2012	2012年10月15日	New Orleans

発表者名	発表標題	
Matsuda, T., Murao, N., Juliandi, B., Namihira, M., Kawai, T., Akira, S., Nakashima, K.	TLR9-signaling regulates neurogenesis in the adult mouse hippocampus.	
学会等名	発表年月日	発表場所
NEUROSCIENCE 2012	2012年10月13日	New Orleans

発表者名	発表標題	
村尾直哉、松田泰斗、古関明彦、波平昌一、中島欽一	マウス脳におけるNP95発現細胞の解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
第6回日本エビジェネティクス研究会年会	2012年05月14日	東京都千代田区

発表者名	発表標題	
佐野坂司、波平昌一、中島欽一	Meningeal cells regulate astrocytic differentiation in the embryonic mouse brain	
学会等名	発表年月日	発表場所
第45回日本発生生物学会・第64回日本細胞生物学会合同大会	2012年05月28日	兵庫県神戸市

発 表 者 名	発 表 標 題		
野口浩史、波平昌一、田中友規、佐野坂司、中島欽一	DNA-methyltransferase 1 functions as a suppressor of neuronal differentiation in late-gestational neural stem cells		
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所	
第45回日本発生生物学会・第64回日本細胞生物学会合同大会	2012年05月28日	兵庫県神戸市	

発 表 者 名	発 表 標 題		
Matsuda T., Juliandi B., Murao N., Namihira M., Kawai T., Akira S., Nakashima K	REGULATION OF ADULT MOUSE NEURAL STEM CELLS BY TLR9 MEDIATED SIGNALING		
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所	
ISSCR 2012	2012年06月13日	神奈川県横浜市	

発 表 者 名	発 表 標 題		
Sanosaka T., Namihira M., Nakashima K.	MENINGEAL CELLS INDUCE ASTROCYTE DIFFERENTIATION OF NEURAL STEM CELLS		
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所	
ISSCR 2012	2012年06月13日	神奈川県横浜市	

発 表 者 名	発 表 標 題		
石川寛、波平昌一、竹林浩秀、中島欽一	グリア細胞の分化と発達におけるDNAメチル化の役割		
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所	
包括脳ネットワーク夏のワークショップ	2012年07月25日	宮城県仙台市	

発表者名	発表標題		
赤土正一、田中友規、波平昌一、野口浩史、五十嵐勝秀、辻村啓太、中島欽一	ニューロンの発達及び興奮毒性神経細胞死制御におけるDNMT1の機能解析		
学会等名	発表年月日	発表場所	
包括脳ネットワーク夏のワークショップ	2012年07月25日	宮城県仙台市	

発 表 者 名		発 表 標 題	
村尾直哉、松田泰斗、古関明彦、波平昌一、中島欽一		マウス脳におけるNP95発現細胞の解析	
学 会 等 名		発表年月日	発 表 場 所
第35回日本神経科学大会		2012年09月18日	愛知県名古屋市の

発 表 者 名		発 表 標 題	
波平昌一		DNAメチル化による神経発生制御機構	
学 会 等 名		発表年月日	発 表 場 所
奈良先端未来開拓コロキウム「シグナルの破綻による疾患の生物学」(招待講演)		2013年01月28日	奈良県生駒市

〔図書〕 計(0)件 (最終年度分)

著 者 名		出 版 社	
書 名		発行年	総ページ数
		― ― ―	

12.研究成果による産業財産権の出願・取得状況

[出願] 計 (0) 件 (最終年度分)

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	出願年月日	国内・外国の別

[取得] 計 (0) 件 (最終年度分)

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	取得年月日	国内・外国の別
				出願年月日	

13.備考