

平成22年度科学研究費補助金実績報告書（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. 研究期間 平成22年度～平成23年度
5. 課題番号 2 2 6 5 0 0 7 8

6. 研究課題名 二分子蛍光補完による複数サイトカインシグナルの入力部位同時検出法の開発

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
8 0 3 0 2 8 9 2	ナカシマ キンイチ 中島 欽一	バイオサイエンス研究科	教授

8. 研究分担者(所属研究機関名については、研究代表者の所属研究機関と異なる場合のみ記入すること。)

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

下欄には、当該年度に実施した研究の成果について、その具体的内容、意義、重要性等を、交付申請書に記載した「研究の目的」、「研究実施計画」に照らし、600字～800字で、できるだけ分かりやすく記述すること。また、国立情報学研究所でデータベース化するため、図、グラフ等は記載しないこと。

申請者は、IL-6ファミリーサイトカイン（IL6-FC）群及び骨形成因子群が相乗的に作用して神経幹細胞のアストロサイト分化を誘導することを明らかにした。しかし生体内において、神経幹細胞が実際にこれらアストロサイト誘導性サイトカインのシグナルを受け取っているのか、さらに細胞のどの部分で受け取っているかについては不明のままである。そこで本研究では、サイトカインシグナル入力の際に、受容体膜タンパク質と転写因子が会合することを利用したこれまでにない二分子蛍光補完（BiFC）法により、異なるサイトカインシグナルの入力同時観察、及びその入力部位同定を行う技術を開発する。さらにこの結果と申請者らのこれまでの成果を統合して、アストロサイト分化能獲得から分化まで、その一連の過程を説明する概念の提示を目指す。

予備的実験より、軟膜細胞の培養上清存在下に神経幹細胞を培養することでアストロサイトへの劇的な分化が観察されたため、軟膜細胞がIL6-FC発現細胞であるかを検討した。IL6-FCに応答することが明らかになったアストロサイト特異的GFAP遺伝子プロモーターを持つレポーターコンストラクトを神経幹細胞に導入し、軟膜細胞培養上清に対してレポーターアッセイを行った。軟膜細胞培養上清によってレポーター活性の上昇が観察されたが、この活性は全てのIL6-FCのシグナル伝達を阻害できるgp130阻害抗体や優性抑制型STAT3によって抑制されたため、軟膜細胞培養上清中のアストロサイト誘導因子がIL6-FCであることが示唆された。そこで、実際にIL6-FCが軟膜細胞において発現されているかを同定するために、各IL6-FCに対するプライマーを用いてRT-PCR法を行った結果、LIF, CNTF, CLCを高発現していることを同定した。今後、BiFC法を用いてこれらサイトカインシグナル入力の観察及び入力部位の同定を行う。

10. キーワード

- (1) 神経幹細胞 (2) 二分子蛍光補完 (3) 分化
 (4) サイトカイン (5) アストロサイト (6) _____
 (7) _____ (8) _____ (裏面に続く)

11.研究発表（平成22年度の研究成果）

【雑誌論文】 計（ 6 ）件 うち査読付論文 計（ 6 ）件

著者名	論文標 題			
Muotri A.R., Marchetto M.C., Coufal N.G., Oefner R., Yeo G., Nakashima K. & Gage F.H.	L1 retrotransposition in neurons is modulated by MeCP2.			
雑 誌 名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Nature	有り	468	2010	443-446

著者名	論文標 題			
Mira H., Andreu Z., Suh H., Lie D.C., Jessberger S., Consiglio A., San Emeterio J., Hortiguera R., Marques-Torrejon M.A., Nakashima K., Colak D., Gotz M., Farinas I. & Gage F.H.	Signaling through BMPR-IA regulates quiescence and long-term activity of neural stem cells in the adult hippocampus.			
雑 誌 名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Cell Stem Cell	有り	7	2010	78-89

著者名	論文標 題			
Kohyama J., Sanosaka T., Tokunaga A., Takatsuka E., Tsujimura K., Okano H. & Nakashima K.	BMP-induced REST regulates the establishment and maintenance of astrocytic identity.			
雑 誌 名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Journal of Cell Biology	有り	189	2011	159-170

著者名	論文標 題			
Juliandi B., Abematsu M. & Nakashima K.	Chromatin remodeling in neural stem cell differentiation.			
雑 誌 名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Current Opinion in Neurobiology	有り	20	2011	408-415

著者名	論文標 題			
Juliandi B., Abematsu M. & Nakashima K.	Epigenetic regulation in neural stem cell differentiation.			
雑 誌 名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Development, Growth & Differentiation	有り	52	2011	493-504

著者名	論文標 題			
Abematsu M., Tsujimura K., Yamano M., Saito M., Kohno K., Kohyama J., Namihira M., Komiya S. & Nakashima K.	Neurons derived from transplanted neural stem cells restore disrupted neuronal circuitry in a mouse model of spinal cord injury.			
雑 誌 名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Journal of Clinical Investigation	有り	120	2011	3255-3266

【学会発表】 計（ 31 ）件 うち招待講演 計（ 7 ）件

発表者名	発表標 題	
武藤哲司、中島欽一	Oxygen tension can control the DNA methylation status of GFAP promoter through Notch signaling and allows propagation and maturation of neuronal progenitor	
学 会 等 名	発表年月日	発表場 所
第8回幹細胞シンポジウム	2010年5月13日	淡路市

発表者名	発表標 題	
Juliandi B.、辻村啓太、精松昌彦、 神山淳、中島欽一	The role of histone acetylation on cortical development	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第8回幹細胞シンポジウム	2010年5月13日	淡路市

発表者名	発表標 題	
中島欽一	移植神経幹細胞由来ニューロンによる脊髄損傷治療	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
神経組織の成長・再生・移植研究会 第25回学術集会	2010年5月22日	大阪市

発表者名	発表標 題	
中島欽一	HDAC阻害剤を用いた神経幹細胞制御による損傷脊髄新規治療法	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
日本エピジェネティクス研究会第4回年会	2010年5月28日	米子市

発表者名	発表標 題	
武藤哲司、武藤正弘、古関庸子、古 関明彦、中島欽一	成体海馬ニューロン新生におけるNP95の役割	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
日本エピジェネティクス研究会第4回年会	2010年5月28日	米子市

発表者名	発表標 題	
辻村啓太、鈴木暁也、藤原正幸、深 尾洋一朗、中島欽一	メチル化DNA結合タンパク質MeCP2の新規相互作用因子の探索	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
日本エピジェネティクス研究会第4回年会	2010年5月28日	米子市

発表者名	発表標 題	
Takagi M., Sasaoka H., Itoh K., Kimura H., Nakashima K., Takizawa T.	Spatiotemporal regulation of activity dependent gene expression in post-mitotic ne urons.	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
The 75 th Cold Spring Harbor Symposium	2010年6月2日	New York USA

発表者名	発表標 題	
裏山悟司、滝沢琢己、堀由貴奈、神 山淳、中島欽一	胚性幹細胞におけるGFAP遺伝子の発現制御機構の解析	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
日本分子生物学会 第10回春季シンポジウム	2010年6月8日	宮城県宮城郡松島町

発表者名	発表標 題	
中島欽一	発生期脳における神経幹細胞のアストロサイトへの分化能獲得および分化誘導 機構	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第50回日本先天異常学会学術集会	2010年7月8日	淡路市

発表者名	発表標 題	
Nakashima K.	Neurons derived from transplanted neural stem cells reconstruct disrupted neuronal circuits in the injured mouse spinal cord.	
学会等名	発表年月日	発表場所
2010 Shanghai Summer Stem Cell Symposium	2010年8月9日	Shanghai China

発表者名	発表標 題	
滝沢琢己、高木美智、笹岡寛敏、伊藤謙治、中島欽一	神経活動依存性遺伝子発現の時空間制御	
学会等名	発表年月日	発表場所
Neuro2010	2010年9月2日	神戸市

発表者名	発表標 題	
齋藤敦、落合希実子、村上智彦、佐野坂司、中島欽一、和中明生、今泉和則	アストロサイト分化における小胞体ストレス応答の役割	
学会等名	発表年月日	発表場所
Neuro2010	2010年9月2日	神戸市

発表者名	発表標 題	
佐野坂司、波平昌一、滝沢琢己、中島欽一	アストロサイト分化誘導性サイトカイン発現細胞の同定	
学会等名	発表年月日	発表場所
Neuro2010	2010年9月2日	神戸市

発表者名	発表標 題	
辻村啓太、鈴木暁也、深尾陽一郎、藤原正幸、中島欽一	メチル化DNA結合タンパク質MeCP2の相互作用因子解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
Neuro2010	2010年9月2日	神戸市

発表者名	発表標 題	
Juliandi B., Tanemura K., Abematsu M., Igarashi K., Kanno J., Nakashima K.	Prenatal HDAC inhibition affects adult hippocampal neurogenesis	
学会等名	発表年月日	発表場所
Neuro2010	2010年9月2日	神戸市

発表者名	発表標 題	
中島欽一、 Juliandi B.	抗てんかん薬バルプロ酸の神経系における良い作用と悪い作用	
学会等名	発表年月日	発表場所
日本遺伝学会第82回大会	2010年9月20日	札幌市

発表者名	発表標 題	
中島欽一	Astrocyte Differentiation Mediated by Cytokines' Signaling	
学会等名	発表年月日	発表場所
The 29 th NAITO CONFERENCE ON GLIA WORLD	2010年10月5日	神奈川県三浦郡葉山町

発表者名	発表標題	
武藤哲司、古関庸子、武藤正弘、古関明彦、中島欽一	Np95 Regulates Astroglialgenesis in the Developing Cerebral Cort	
学会等名	発表年月日	発表場所
The 29 th NAITO CONFERENCE ON GLIA WORLD	2010年10月5日	神奈川県三浦郡葉山町

発表者名	発表標題	
佐野坂司、波平昌一、滝沢琢己、中島欽一	Meningeal Cells Induce Astrocyte Differentiation of Neural Stem Cells	
学会等名	発表年月日	発表場所
The 29 th NAITO CONFERENCE ON GLIA WORLD	2010年10月5日	神奈川県三浦郡葉山町

発表者名	発表標題	
Berry J., Tsujimura K., Abematsu M., Kohyama J., Nakashima K.	The effects of histone deacetylaseinhibition on cortical development	
学会等名	発表年月日	発表場所
40 th Annual Meeting NEUROSCIENCE2010	2010年11月13日	San Diego USA

発表者名	発表標題	
Mutoh T., Nakashima K.	Hypoxic condition facilitates Notch induced DNA demethylation of astrocytic genes, resulting in the enhanced astrocyte differentiation of neural precursor cells in response to the astrocyte inducing cytokine LIF	
学会等名	発表年月日	発表場所
40 th Annual Meeting NEUROSCIENCE2010	2010年11月13日	San Diego USA

発表者名	発表標題	
Urayama S., Takizawa T., Hori Y., Kohyama J., Nakashima K.	Analysis of DNA methylation independent regulatory mechanisms of astrocyte specific gene expression in embryonic stem cells	
学会等名	発表年月日	発表場所
40 th Annual Meeting NEUROSCIENCE2010	2010年11月13日	San Diego USA

発表者名	発表標題	
Tsujimura K., Fukao M., Fujiwara R., Suzuki A., Nakashima K.	Protemic identification of co-factors for the methyl-CpG binding protein, MeCP2	
学会等名	発表年月日	発表場所
40 th Annual Meeting NEUROSCIENCE2010	2010年11月13日	San Diego USA

発表者名	発表標題	
Sanosaka T., Namihira M., Takizawa T., Nakashima K.	Meningeal cells express astrocyte inducing cytokines in the developing mouse brain	
学会等名	発表年月日	発表場所
40 th Annual Meeting NEUROSCIENCE2010	2010年11月13日	San Diego USA

発表者名	発表標題	
Abemstu M., Tsujimura K., Yamano M., Saito M., Kohno K., Kohyama J., Namihira M., Komiya, S., Nakashima K.	Epigenetic regulation of transplanted neural stem cells reconstructed injured spinal cord	
学会等名	発表年月日	発表場所
40 th Annual Meeting NEUROSCIENCE2010	2010年11月13日	San Diego USA

発表者名	発表標 題		
Takiazawa, T., Takagi M., Itoh K., Nakashima K.	Spatiotemporal regulation of activity dependent genes in post-mitotic neurons		
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所	
40 th Annual Meeting NEUROSCIENCE2010	2010年11月13日	San Diego USA	

発表者名	発表標 題		
中島欽一	神経幹細胞制御におけるヒストン脱アセチル化酵素阻害剤の影響とその影響		
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所	
大阪大学蛋白質研究所セミナー	2010年11月25日	大阪市	

発表者名	発表標 題		
中島欽一	抗てんかん薬バルプロ酸のエピジェネティックな作用とその応用		
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所	
第3回Stroke Science Academy	2010年12月3日	福岡市	

発表者名	発表標 題		
武藤哲司、中島欽一	Hypoxic condition facilitates Notch-induced DNA demethylation of astrocytic genes, resulting in the enhanced astrocyte differentiation of neural precursor cells		
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所	
BMB2010	2010年12月7日	神戸市	

発表者名	発表標 題		
鈴木暁也、辻村啓太、中島欽一	Rett症候群原因遺伝子産物MeCP2の新規機能解析		
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所	
BMB2010	2010年12月7日	神戸市	

発表者名	発表標 題		
裏山悟司、滝沢琢己、神山淳、中島欽一	Analysis of DNA methylation-independent regulatory mechanisms of astrocyte specific gene expression in embryonic stem cells (ESCs)		
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所	
BMB2010	2010年12月7日	神戸市	

【図 書】 計 (1) 件

著 者 名	出 版 社		
Juliandi B, Abematsu M, Nakashima K	Elsevier		
書 名		発 行 年	総ページ数
Handbook of epigenetics: The new molecular and medical genetics		2010	14

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

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

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

13. 備考

※ 研究者又は所属研究機関が作成した研究内容又は研究成果に関するwebページがある場合は、URLを記載すること。

--