

成体ニューロン新生：成体神経幹／前駆細胞とその増殖調節

鳥取大学医学部保健学科生体制御学講座

森 徹自, 川島史祥, 齋藤健吾

Neural stem cells and regulation of their proliferation
in the adult brain

Tetsuji MORI, Fumiaki KAWASHIMA, Kengo SAITO

*Department of Biological Regulation, School of Health Sciences, Faculty of Medicine,
Tottori University, Nishi-Cho 86, Tottori, 683-8503, Japan***ABSTRACT**

The adult brain of mammals, including humans, has the following two neurogenic regions: the subventricular zone (SVZ) lining the lateral ventricle and subgranular zone of the hippocampus. In these regions, neural stem and progenitor cells (neural precursor cells, NPCs) generate neurons throughout the lifespan. Here we review recent studies on adult neurogenesis, mainly focusing on SVZ. First, we describe the anatomical aspects of SVZ. Adult neural stem cells morphologically and functionally share many characters with astrocytes, which reside in the “non-neurogenic” regions. Moreover, it is a critical issue that endogenous NPCs are highly heterogeneous. Second, we summarize several growth factors and neurotransmitters that affect the proliferation of endogenous NPCs. These factors greatly affect the regulation of adult neurogenesis because accumulating evidence indicates that neuronal activities and pathological conditions affect the proliferation of NPCs. Therefore, understanding the properties of endogenous NPCs is important for repairing a brain damage. (Accepted on April 5, 2016)

Key words : adult neurogenesis, subventricular zone, neural stem cell, cell proliferation

はじめに

成体ニューロン新生

脳は、再生が最も困難な臓器であり、ヒトを含めた成体哺乳類の脳においては、ニューロン新生は起きないと考えられてきた。しかし、成体哺乳類においても一部の領域において生涯を通じてニューロンが産生されている事が明らかになっている。「ニューロン新生領域」として一般的に認められる

部位は、側脳室周囲の脳室下帯 (Subventricular zone; SVZ) と、海馬歯状回の顆粒細胞層下帯 (Subgranular zone; SGZ) であり、これらの領域には神経幹細胞が存在する。これらの神経幹細胞が本当の意味での「幹細胞」であるかは議論のある所であるが¹⁾、本稿では神経幹細胞という言葉をあえて使用する。また、神経幹細胞とそれらから分化した前駆細胞を合わせて神経幹/前駆細胞 (Neural Precursor Cell; NPC) とする。

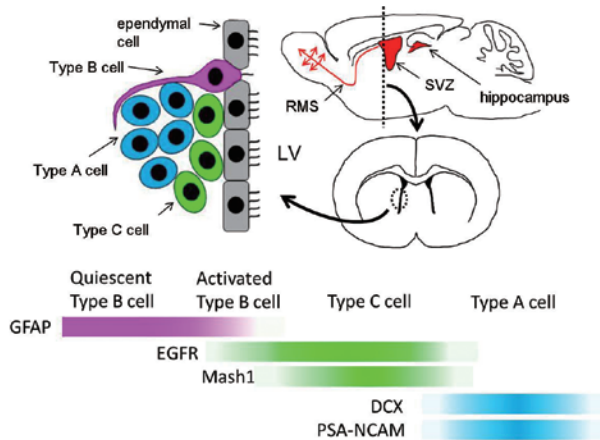


図1 成体ニューロン新生とSVZ神経幹/前駆細胞

SVZとSGZには神経幹/前駆細胞が存在する。SVZの神経幹/前駆細胞と一般的に用いられる代表的なマーカー分子の発現パターンを模式的に示す。GFAP; glial fibrillary acidic protein, DCX; doublecortin, PSA-NCAM; polysialic acid neural cell adhesion molecule, EGFR; epidermal growth factor receptor.

成体ニューロン新生には、主にNPCの分裂増殖、移動、分化・成熟（と細胞死）の三段階から成立する。本総説では、特に成体SVZにおけるNPCの性質と増殖の調節についての最近の知見をまとめて紹介したい。

SVZの形態学的特徴

SVZは、側脳室を裏打ちする上皮細胞と線条体に挟まれた狭い領域に相当し、Type A, Type B, Type Cと3種類の分裂能を持つ細胞が存在する(図1)。Type B細胞は神経幹細胞とされ、非常にゆっくりと増殖し、分裂が活性化された一部のType B細胞はType C細胞へ分化する。Type C細胞はtransient amplifying cells とも呼ばれて活発に増殖した後、Type A細胞に分化する。Type A細胞は数回の分裂を経て、一定数の細胞死を伴いながら嗅球へと移動し、介在ニューロン（顆粒細胞、糸球体傍細胞）となる²⁾。Type C細胞やType A細胞の一回の細胞周期は約17-18時間である³⁾。

Type B細胞は、脳実質側への突起だけでなく側脳室方向への短い突起を持ち、アストロサイト様の性質を持っている(後述)。特に側脳室への突起の先端にある一次線毛が、上皮細胞と上皮細胞の隙間から側脳室へ突出する事で、脳脊髄液との直接的な接触を持つ⁴⁾。また、神経前駆細胞はrostral

migratory stream (RMS) と呼ばれる部位を移動するが、神経幹細胞とは異なる性質のアストロサイトが網目状にType A細胞を取り囲み、「グリアチューブ」と呼ばれる構造を形成する。NPCがその性質を保持し続けるためには、周囲を取り巻く微小環境が必要であるとされる。中でもSVZ周辺の豊富な血管網は大きな要因のひとつである⁵⁾。

成体神経幹細胞の発生と性質

SVZ, SGZ共に成体神経幹細胞は、マーカー分子の発現などからアストロサイトとしての性質を持つ⁶⁾。胎生期における神経幹細胞は放射状グリアであり、やはりアストロサイトとしての性質を持つ(図2)。さらに、成体SVZ神経幹細胞と放射状グリアの発生学的連続性も証明されていて、電気生理学的解析から、SVZ神経幹細胞は放射状グリアとアストロサイトとの中間型の性質を示す⁷⁾。

放射状グリアは胎生期の中枢神経系全域に存在するが、領域特異性を持つ不均一な細胞集団である。成体SVZ神経幹細胞にも領域特異性があり、新生嗅球ニューロンの位置や種類との対応がある⁸⁾。注意すべきは、SVZから嗅球ニューロンだけでなく、(Type B細胞以外の)アストロサイトやオリゴデンドロサイトも産生されることである^{9,10)}。ニューロンを産生する同一の細胞が、真の意味で「幹

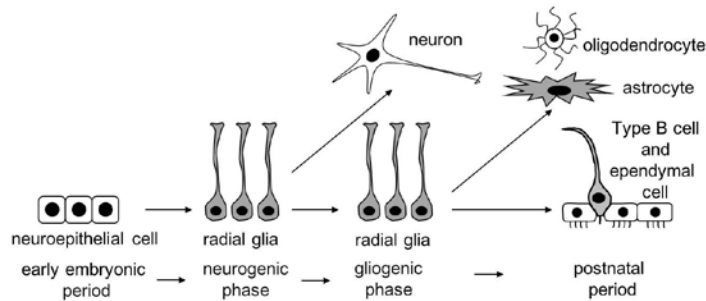


図2 内在性神経幹細胞とアストロサイトの関係

神経上皮細胞から分化した放射状グリア (radial glia) は、胎生中期でニューロンを、胎生後期でグリア (オリゴデンドロサイトとアストロサイト) を産生する。その後、上皮細胞と Type B細胞に分化する。放射状グリア、アストロサイト、Type B細胞は多くのマーカータンパク質を共有する。放射状グリアの全てが多分化能を持っているわけではない事に注意¹⁾。

細胞」としてアストロサイトやオリゴデンドロサイトを産生するのか、あるいは、各細胞産生に特化した「前駆細胞」が存在するのかは明らかでない¹⁾。SVZに存在するNPCとNPC内の細胞小集団を同定するために種々のマーカー分子が用いられるが、神経幹/前駆細胞は不均一な集団であり決定的なマーカー分子と呼ぶことはできないことが多い¹⁾(図1)。この事が、詳細な解析を阻む大きな要因となっている。

SVZとSGZにおける神経幹細胞の性質もやはり大きく異なる。SGZの神経幹細胞は、脳脊髄液と直接の接触は無い(前述)。また、SVZ-嗅球系のニューロン新生では、嗅球ニューロンが入れ替わるのに対して、海馬ではニューロンの追加という形で新生が行われる^{11,12)}。

Neurosphereアッセイ

1990年代初頭、神経幹細胞の培養を可能にする画期的な培養方法が開発された。EGF (Epidermal Growth Factor) と bFGF (basic Fibroblast Growth Factor) 存在下の無血清培地中で、単一細胞から neurosphere と呼ばれる細胞塊が形成される。neurosphere は継代が可能で (自己複製能)、ニューロン、アストロサイト、オリゴデンドロサイトへと分化させることが可能である (多分化能) ことから、「幹細胞」の培養系として多くの研究で用いられてきた¹³⁾。

しかし前述の通り、放射状グリアや成体SVZ神経幹細胞には領域特異性があるが、neurosphere

培養過程では急速に領域特異性が失われる¹⁾。更に、neurosphere 形成能を持つ細胞は多岐にわたり、オリゴデンドロサイト前駆細胞¹⁴⁾、周皮細胞¹⁵⁾、反応性アストロサイト¹⁶⁾ など、生体内では決してニューロンを産生しない細胞も neurosphere を形成する。しかも、成体SVZにおいて neurosphere を形成する細胞は、EGF 受容体 (EGFR) を発現する一部の Type B細胞 (細胞増殖が活性化された Type B細胞) と Type C細胞である (後述)。このように、neurosphere アッセイは *in vivo* における本来の「神経幹細胞」の性質を正確に反映するものでないことに注意が必要である。

脳の活動状態と神経幹/前駆細胞の増殖調節

成体ニューロン新生は、脳の活動状態や環境から入力される様々な刺激に影響される¹⁷⁾。特に脳梗塞、てんかん、外傷など様々な病態下ではニューロンが過剰興奮するが、その際にNPCの増殖に対する影響は大きいことから^{18,19)}、神経伝達物質 (図3) やアストロサイトなどから産生される各種増殖・栄養因子と幹細胞の増殖が深い関係を持つと言える。ニューロンの興奮と細胞増殖亢進との関係は、他の前駆細胞についても当てはまる。例えば、正常な大脳皮質ではごく少数のオリゴデンドロサイト前駆細胞 (Oligodendrocyte Precursor Cell; OPC) が分裂しているが²⁰⁾、ニューロンが過剰興奮すると OPC は一斉に分裂を開始する²¹⁾。

次に、主に正常SVZにおけるNPCの増殖を調節する因子として、増殖因子と神経伝達物質の代表

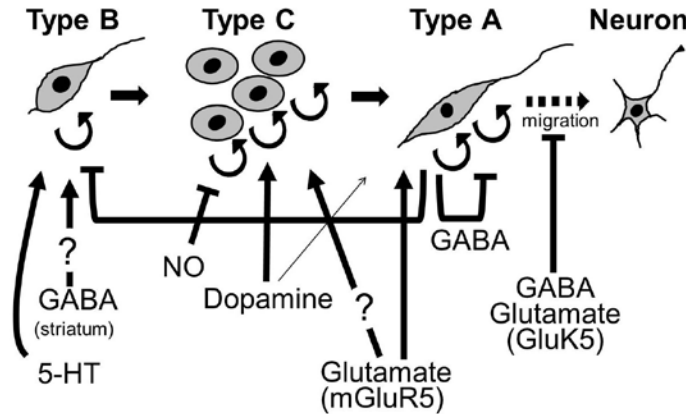


図3 内在性神経幹／前駆細胞の増殖・移動と神経伝達物質の関係
代表的なもののみ示す。本文参照。

的なものについて概説する。なお、「成体ニューロン新生が促進される」とは、二つの場合があり、1) NPCの増殖が促進される、あるいは2) 新生細胞の生存が促進された結果、新生ニューロンが増加する。結果としては同じでも、この二つの現象を分けて考える必要がある。

増殖因子

EGFとbFGF

EGFとbFGFは、neurosphere培養時に必須である。生体内においても、EGFRとFGF受容体(FGFR)はSVZにおいて強く発現し、両因子を側脳室内に長期投与すると、SVZでの細胞増殖が促進される²²⁾。しかしこれらの因子は、その後の細胞運命に異なる影響を与える。EGFRは、活性化されたType B細胞とType C細胞で発現している¹³⁾、オリゴデンドロサイトへの分化を促進する²³⁾。脱髄疾患モデル動物においても、EGFRの活性化によってSVZからオリゴデンドロサイトの産生が促進される²⁴⁾。

一方、bFGF投与で新生嗅球ニューロンが増加する²²⁾。FGFRには1型から4型が存在するが、成体SVZにおけるFGFRの詳細な分布はよくわかっていない。*in situ hybridization*による解析では、1型と2型のみが成体SVZにおける増殖細胞(おそらくType B細胞とType C細胞の一部)において発現している²⁵⁾。

NPCの分化に対するEGFとbFGFの違いは、受

容体の違いによるものであろう。しかし、胎児脳由来のneurosphere培養時においても、EGFとbFGFに反応する細胞が異なることから²⁶⁾、各因子に反応する細胞集団が異なる可能性もある。

PDGF (Platelet Derived Growth Factor)

PDGFは、OPCの増殖因子として必須である²⁷⁾。PDGF受容体のひとつである α サブユニット(PDGFR α)は、大多数のType B細胞において限局して発現している²⁸⁾、正常状態下でも少数の脳梁オリゴデンドロサイトがSVZから産生される¹⁰⁾。PDGFの側脳室内投与によって異常な細胞増殖が誘発されるが、PDGFに反応したこれらの細胞はオリゴデンドロサイトに分化する²⁸⁾。さらに、PDGFR α をSVZ神経幹細胞特異的に除去すると、嗅球ニューロン新生は正常であるが、脳梁オリゴデンドロサイトは減少する事から、PDGFR α のシグナルはオリゴデンドロサイトの分化調節に深く関与する事が示唆される²⁸⁾。Type B細胞という細胞集団からニューロンとオリゴデンドロサイトが産生されるが、両者が同一細胞から、あるいはType B細胞内の別集団の細胞から産生されるか、という点については不明である。

EGFとPDGFは、共にNPCの増殖とオリゴデンドロサイト分化に関わる。しかしneurosphereアッセイから、EGFとPDGFが作用する細胞は異なり²⁸⁾、*in vivo*でもEGFRとPDGFR α の発現細胞集団の違いを考慮すると、両者は互いに独立して作

用すると考えられる。

BDNF (Brain Derived Neurotrophic Factor)

成体ラットにおいて、BDNFはSVZにおけるNPCの増殖を促進することが示された^{29,30)}。その一方で、BDNFの効果を否定する論文も発表されている³¹⁾。異なる結果の原因の一つは、用いた動物種の相違かもしれない。Galvãoらによると、BDNFの側脳室内への注入実験結果はマウスとラットで異なり、マウスでは対照群と変化が無いが、ラットではむしろ嗅球ニューロン新生が抑制される。また、BDNFの主要な受容体はTrkBであるが、SVZにおいて発現しているのはTrkBの細胞内キナーゼドメインを欠くisoformである。更に、TrkBノックアウトマウスを使用した解析から、TrkBを介したシグナルは、嗅球ニューロン新生に影響を与えない³¹⁾。これらの事から、BDNFの効果については更なる検討が必要である。

神経伝達物質

グルタミン酸

グルタミン酸受容体は、イオンチャネル型受容体 (AMPA/カイニン酸型, NMDA型) および、Gタンパク質共役の代謝型受容体 (mGluR1-8) に大別される。各受容体の発現については、neurosphereにおける解析は多いが、生体内における詳細な分布は明らかではない。脳スライス培養系では、Type A細胞においてAMPA/カイニン酸型受容体、NMDA受容体、代謝型のmGluR5が機能している事が組織学的、電気生理学的手法で確認されているが、Type B細胞ではこれらの受容体の発現が認められず、またType C細胞については不明である^{32,34)}。

NPCに対するグルタミン酸の作用は複雑である。mGluR5の拮抗薬投与およびノックアウトマウスのSVZでは増殖細胞の減少がみられることから、mGluR5シグナルはNPCの増殖(と生存)を促進する事が示されている³³⁾。また、NMDA受容体はNPCの生存を促進する³⁴⁾。Type A細胞におけるグルタミン酸受容体は、細胞移動にも関与する。Type A細胞ではmGluR5とカイニン酸型受容体のGluK5の両者が発現しているが、GluK5は細胞移動を抑制的に調節する³³⁾。SVZにおいてグルタミン酸を放出する細胞は、RMSのグリアチューブを構成するアストロサイトであるが³⁴⁾、大脳皮

質のグルタミン酸作動性ニューロンからの投射が存在するかは不明である。

GABA

GABA受容体はCl⁻チャネル型のGABA-A、GABA-C受容体と、代謝型のGABA-B受容体に分類される。このうち、SVZの細胞増殖に対してGABA-A受容体が重要である事が明らかになっている。電気生理学的解析から、Type B細胞とType A細胞でGABA-A受容体の存在が確認されていて、Type A細胞から放出されるGABAがType B細胞の増殖を抑制するnegative feedbackループが存在する³⁶⁾。また、SVZに接する線条体においては約95%のニューロンがGABAニューロンであり、その軸索および樹状突起の一部がSVZに入る³⁷⁾。線条体からのGABA入力はやはりGABA-A受容体を活性化させるが、NPCの細胞増殖を亢進する可能性も示されていて³⁷⁾、今後の解析が期待されている。

GABA-A受容体はType A細胞でも機能していて、細胞増殖の抑制作用³⁸⁾、および細胞移動の抑制作用が報告されている³³⁾。グルタミン酸とGABAは、ニューロンの興奮を拮抗的に調節するが、Type A細胞の移動に関しては、前述のGluK5とGABA-A受容体が共同して働くという事は興味深い。

アセチルコリン

前脳基底部にはアセチルコリン作動性ニューロンが多数存在する。これらのニューロンに障害を与えると、嗅球ニューロン新生が阻害されるが、アセチルコリンがNPCの増殖もしくは生存のどちらに作用するか正確にはわからない³⁹⁾。

最近、より詳細な解析結果が報告された。SVZ中あるいはSVZ直近には、線条体中のものとは形態的・興奮特性が異なるアセチルコリン作動性ニューロンが存在する⁴⁰⁾。これらのニューロンから放出されるアセチルコリンが、Type B細胞のアセチルコリン受容体を活性化して増殖を亢進する。しかしながら、このようなアセチルコリンの細胞増殖作用は直接的ではなく、FGFRの活性化を介した間接的な作用であると示唆されている^{40,41)}。さらにアセチルコリンは、黒質から線条体に投射するドーパミン (DA) ニューロンからのDAの放出を調節している⁴²⁾。DAもまた細胞増殖に関与する

ので(後述), アセチルコリンはNPCに対してこれらの因子を介して間接的にNPCの増殖に関与すると考えられる。

一方で, アセチルコリンエステラーゼ阻害薬投与によるアセチルコリンシグナル活性化によって, 嗅球新生ニューロンの細胞死は抑制されるが増殖は影響されないという報告もあり⁴³⁾, 更なる解析が必要である。

ドーパミン (DA)

パーキンソン病患者, および中脳DAニューロンの破壊によるパーキンソン病モデル動物において, SVZにおけるNPCの増殖が抑制されている事から⁴⁴⁾, DAとNPCの増殖との関係が注目される。

DA受容体はGタンパク質共役型で, D1型(D1, D5)とD2型(D2, D3, D4)に分類される。D1型とD2型ではNPCの増殖に対する作用が異なり, 各受容体の活性化で増殖がそれぞれ抑制, 促進される(O'Keefe et al.⁴⁵⁾参照)。電子顕微鏡による解析から, Type B細胞にはDA受容体の発現は検出されず, D1型はType C細胞の細胞質とType A細胞の細胞膜上, D2型はType C細胞の細胞質と細胞膜上に非常に豊富に発現し, Type A細胞の細胞膜上にも若干の発現が検出される⁴⁴⁾。また, DA軸索はEGFR陽性のType C細胞と特に密に, しかもシナプス前構造のマーカー分子を発現して直接的に接触している事から, DAは主にType C細胞に作用しているとみられる^{44, 46)}。neurosphereアッセイで, DAの細胞増殖促進作用はEGFを介する事が示されている⁴⁷⁾。黒質DAニューロンからの投射を破壊した動物においても, SVZにおけるEGFの発現が低下し, NPCの増殖が抑制される事から, DAの作用の一部はEGFを介した間接的な影響が示唆される⁴⁷⁾。

セロトニン (5-hydroxytryptamine; 5-HT)

5-HTニューロンは縫線核に存在し, 広範な生理機能を持ち, 特にストレスやうつ病など気分障害の病態に深く関与するとされる。また, ストレス負荷実験によってSVZやSGZのニューロン新生が抑制される事が知られる¹⁸⁾。

5-HT受容体は7種類のサブファミリーに分類されるが, SVZにおける発現パターンについては統一的な見解が無い^{18, 48)}。薬理的解析から, 5-HT1Aと5-HT2C受容体の活性化でSVZにおける

NPCの増殖(と生存)の亢進をするが^{49, 50)}, 5-HT1B受容体の活性化では逆に増殖細胞数が減少する⁴⁹⁾。そして, 様々な増殖因子が発現している脈絡叢で5-HT2C受容体が豊富に発現している事から, 5-HTの効果は間接的なものである可能性が示唆されていた⁴⁹⁾。

しかし最近, 5-HTニューロンがType B細胞の増殖を直接制御している事が示された。縫線核から前脳への5-HT投射経路の中で特に独特な経路が, 脳脊髄液と直接接合して脳室表面に沿って前脳に投射する経路である⁵¹⁾。この軸索と, Type B細胞が上衣細胞の隙間から伸ばす一次線毛がシナプス様の構造を作り, 5-HT2C受容体を介してType B細胞の増殖を促進する⁴⁸⁾。

ストレスやうつ病などの病態と成体ニューロン新生の関係の解析が期待されるが, そのためにも細胞種ごとの詳細な受容体の発現分布解析が必要である。

一酸化窒素 (NO)

NOの広範な生理機能のひとつが, ニューロン活動の調節である。脳におけるNO合成酵素はNOS (Nitric Oxide Synthase)で, nNOS (neuronal NOS), iNOS (inducible NOS), eNOS (endothelial NOS)の3種類が存在する。nNOS陽性細胞は線条体において密に存在し, 一部の細胞はSVZ-嗅球系のニューロン新生領域を取り囲む⁵²⁾。NOはNPCの増殖抑制作用を持つ事が示されており, nNOSノックアウトマウスおよびNOS阻害薬長期投与の結果, SVZにおける細胞増殖が亢進する^{53, 54)}。NOはEGFRの活性を直接抑制する事から, NOの標的細胞はEGFRを発現するType C細胞であると示唆される^{55, 56)}。

重積てんかん発作モデル動物において, 一過性にSVZおよびSGZの神経前駆細胞の増殖が亢進する事が知られるが, そのメカニズムは不明であった¹⁹⁾。我々は, 重積てんかん発作誘発直後に, SVZ直近のニューロンにおいてエピソード的な遺伝子発現変化が起きている事を見出した⁵⁷⁾。また, SVZ直近ニューロンにおけるnNOSの活性が, 重積てんかん発作誘発直後から有為に低下している事も確認している(未発表データ)。このようなSVZ周囲の微小環境の変化が, 細胞増殖亢進の原因である事が示唆される。

おわりに

最近ではiPS細胞が注目を集め、再生医療の研究が活発に行われている。脳も再生医療の標的であるが、あまりに複雑なこの臓器は、単純にNPCやNPC由来細胞を移植するだけでは、機能回復には至らない。しかし、脳が損傷を負った際には、内在性NPCを用いた治療が非常に有望であると考えられる。そのためにも内在性NPCの性質、微小環境に関する基礎的知見が必要である。

内在性神経幹細胞の研究の最大の問題点は、これらが不均一な細胞集団であるにもかかわらず、良いマーカー分子が不明な点にある。今後は、生体内における単一細胞レベルでの解析が必要とされる。

本稿を終えるにあたり、これまでの研究を支えていただいたMagdalena Götz博士、および関西医科大学解剖学第一講座の山田久夫教授と講座の皆様方に、深く感謝いたします。

文 献

- 1) Götz M, Sirko S, Beckers J, Irmeler M. Reactive astrocytes as neural stem or progenitor cells: In vivo lineage, In vitro potential, and Genome-wide expression analysis. *Glia* 2015; **63**: 1452-1468.
- 2) Ponti G, Obernier K, Guinto C, Jose L, Bonfanti L, Alvarez-Buylla A. Cell cycle and lineage progression of neural progenitors in the ventricular-subventricular zones of adult mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013; **110**: E1045-E1054.
- 3) Mori T, Wakabayashi T, Hirahara Y, Takamori Y, Koike T, Kurokawa K, Yamada H. Differential responses of endogenous adult mouse neural precursors to excess neuronal excitation. *Eur J Neurosci* 2012; **36**: 3184-3193.
- 4) Mirzadeh Z, Merkle FT, Soriano-Navarro M, Garcia-Verdugo JM, Alvarez-Buylla A. Neural stem cells confer unique pinwheel architecture to the ventricular surface in neurogenic regions of the adult brain. *Cell Stem Cell* 2008; **3**: 265-278.
- 5) Shen Q, Goderie SK, Jin L, Karanth N, Sun Y, Abramova N, Vincent P, Pumiglia K, Temple S. Endothelial cells stimulate self-renewal and expand neurogenesis of neural stem cells. *Science* 2004; **304**: 1338-1340.
- 6) Mori T, Buffo A, Götz M. The novel roles of glial cells revisited: the contribution of radial glia and astrocytes to neurogenesis. *Curr Top Dev Biol* 2005; **69**: 67-99.
- 7) Liu X, Bolteus AJ, Balkin DM, Henschel O, Bordey A. GFAP-expressing cells in the postnatal subventricular zone display a unique glial phenotype intermediate between radial glia and astrocytes. *Glia* 2006; **54**: 394-410.
- 8) Merkle FT, Mirzadeh Z, Alvarez-Buylla A. Mosaic organization of neural stem cells in the adult brain. *Science* 2007; **317**: 381-384.
- 9) Sohn J, Orosco L, Guo F, Chung S-H, Bannerman P, Mills Ko E, Zarbalis K, Deng W, Pleasure D. The subventricular zone continues to generate corpus callosum and rostral migratory stream astroglia in normal adult mice. *J Neurosci* 2015; **35**: 3756-3763.
- 10) Menn B, Garcia-Verdugo JM, Yaschine C, Gonzalez-Perez O, Rowitch D, Alvarez-Buylla A. Origin of oligodendrocytes in the subventricular zone of the adult brain. *J Neurosci* 2006; **26**: 7907-7918.
- 11) Imayoshi I, Sakamoto M, Ohtsuka T, Takao K, Miyakawa T, Yamaguchi M, Mori K, Ikeda T, Itohara S, Kageyama R. Roles of continuous neurogenesis in the structural and functional integrity of the adult forebrain. *Nat Neurosci* 2008; **11**: 1153-1161.
- 12) Ninkovic J, Mori T, Götz M. Distinct modes of neuron addition in adult mouse neurogenesis. *J Neurosci* 2007; **27**: 10906-10911.
- 13) Pastrana E, Silva-Vargas V, Doetsch F. Eyes wide open: a critical review of sphere-formation as an assay for stem cells. *Cell Stem Cell* 2011; **8**: 486-498.
- 14) Kondo T, Raff M. Oligodendrocyte precursor cells reprogrammed to become multipotential CNS stem cells. *Science* 2000;

- 289: 1754-1757.
- 15) Dore-Duffy P, Katychew A, Wang X, Van Buren E. CNS microvascular pericytes exhibit multipotential stem cell activity. *J Cereb Blood Flow Metab* 2006; **26**: 613-624.
 - 16) Buffo A, Rite I, Tripathi P, Lepier A, Colak D, Horn A-P, Mori T, Götz M. Origin and progeny of reactive gliosis: A source of multipotent cells in the injured brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; **105**: 3581-3586.
 - 17) van Praag H, Kempermann G, Gage FH. Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus. *Nat Neurosci* 1999; **2**: 266-270.
 - 18) Hitoshi S, Maruta N, Higashi M, Kumar A, Kato N, Ikenaka K. Antidepressant drugs reverse the loss of adult neural stem cells following chronic stress. *J Neurosci Res* 2007; **85**: 3574-3585.
 - 19) Parent JM, Valentin V V, Lowenstein DH. Prolonged seizures increase proliferating neuroblasts in the adult rat subventricular zone-olfactory bulb pathway. *J Neurosci* 2002; **22**: 3174-3188.
 - 20) Mori T, Wakabayashi T, Takamori Y, Kitaya K, Yamada H. Phenotype analysis and quantification of proliferating cells in the cortical gray matter of the adult rat. *Acta Histochem Cytochem* 2009; **42**: 1-8.
 - 21) Tamura Y, Kataoka Y, Cui Y, Yamada H. Cellular proliferation in the cerebral cortex following neural excitation in rats. *Neurosci Res* 2004; **50**: 129-133.
 - 22) Kuhn HG, Winkler J, Kempermann G, Thal LJ, Gage FH. Epidermal growth factor and fibroblast growth factor-2 have different effects on neural progenitors in the adult rat brain. *J Neurosci* 1997; **17**: 5820-5829.
 - 23) Gonzalez-Perez O, Romero-Rodriguez R, Soriano-Navarro M, Garcia-Verdugo JM, Alvarez-Buylla A. Epidermal growth factor induces the progeny of subventricular zone type B cells to migrate and differentiate into oligodendrocytes. *Stem Cells* 2009; **27**: 2032-2043.
 - 24) Aguirre A, Dupree JL, Mangin JM, Gallo V. A functional role for EGFR signaling in myelination and remyelination. *Nat Neurosci* 2007; **10**: 990-1002.
 - 25) Frinchi M, Bonomo A, Trovato-Salinaro A, Condorelli DF, Fuxe K, Spampinato MG, Mudò G. Fibroblast growth factor-2 and its receptor expression in proliferating precursor cells of the subventricular zone in the adult rat brain. *Neurosci Lett* 2008; **447**: 20-25.
 - 26) Tropepe V, Sibilina M, Ciruna BG, Rossant J, Wagner EF, van der Kooy D. Distinct neural stem cells proliferate in response to EGF and FGF in the developing mouse telencephalon. *Dev Biol* 1999; **208**: 166-188.
 - 27) Raff MC, Miller RH, Noble M. A glial progenitor cell that develops in vitro into an astrocyte or an oligodendrocyte depending on culture medium. *Nature* 1983; **303**: 390-396.
 - 28) Jackson EL, Garcia-Verdugo JM, Gil-Perotin S, Roy M, Quinones-Hinojosa A, VandenBerg S, Alvarez-Buylla A. PDGFR alpha-positive B cells are neural stem cells in the adult SVZ that form glioma-like growths in response to increased PDGF signaling. *Neuron* 2006; **51**: 187-199.
 - 29) Zigova T, Pencea V, Wiegand SJ, Luskin MB. Intraventricular administration of BDNF increases the number of newly generated neurons in the adult olfactory bulb. *Mol Cell Neurosci* 1998; **11**: 234-245.
 - 30) Benraiss A, Chmielnicki E, Lerner K, Roh D, Goldman S. Adenoviral brain-derived neurotrophic factor induces both neostriatal and olfactory neuronal recruitment from endogenous progenitor cells in the adult forebrain. *J Neurosci* 2001; **21**: 6718-6731.
 - 31) Galvão RP, Garcia-Verdugo JM, Alvarez-Buylla A. Brain-derived neurotrophic factor signaling does not stimulate subventricular zone neurogenesis in adult mice and rats. *J Neurosci* 2008; **28**: 13368-13383.
 - 32) Di Giorgi Gerevini VD, Caruso A, Cappuccio

- I, Ricci Vitiani L, Romeo S, Della Rocca C, Gradini R, Melchiorri D, Nicoletti F. The mGlu5 metabotropic glutamate receptor is expressed in zones of active neurogenesis of the embryonic and postnatal brain. *Brain Res Dev Brain Res* 2004; **150**: 17-22.
- 33) Platel J-C, Heintz T, Young S, Gordon V, Bordey A. Tonic activation of GLUK5 kainate receptors decreases neuroblast migration in whole-mounts of the subventricular zone. *J Physiol* 2008; **586**: 3783-3793.
- 34) Platel J-C, Dave KA, Gordon V, Lacar B, Rubio ME, Bordey A. NMDA receptors activated by subventricular zone astrocytic glutamate are critical for neuroblast survival prior to entering a synaptic network. *Neuron* 2010; **65**: 859-872.
- 35) Di Giorgi-Gerevini V, Melchiorri D, Battaglia G, Ricci-Vitiani L, Ciceroni C, Busceti CL, Biagioni F, Iacovelli L, Canudas a M, Parati E, De Maria R, Nicoletti F. Endogenous activation of metabotropic glutamate receptors supports the proliferation and survival of neural progenitor cells. *Cell Death Differ* 2005; **12**: 1124-1133.
- 36) Liu X, Wang Q, Haydar TF, Bordey A. Nonsynaptic GABA signaling in postnatal subventricular zone controls proliferation of GFAP-expressing progenitors. *Nat Neurosci* 2005; **8**: 1179-1187.
- 37) Young SZ, Lafourcade CA, Platel J-C, Lin T V, Bordey A. GABAergic striatal neurons project dendrites and axons into the postnatal subventricular zone leading to calcium activity. *Front Cell Neurosci* 2014; **8**: 10.
- 38) Nguyen L, Malgrange B, Breuskin I, Bettendorff L, Moonen G, Belachew S, Rigo J-M. Autocrine/paracrine activation of the GABA (A) receptor inhibits the proliferation of neurogenic polysialylated neural cell adhesion molecule-positive (PSA-NCAM+) precursor cells from postnatal striatum. *J Neurosci* 2003; **23**: 3278-3294.
- 39) Cooper-Kuhn CM, Winkler J, Kuhn HG. Decreased neurogenesis after cholinergic forebrain lesion in the adult rat. *J Neurosci Res* 2004; **77**: 155-165.
- 40) Paez-Gonzalez P, Asrican B, Rodriguez E, Kuo CT. Identification of distinct ChAT⁺ neurons and activity-dependent control of postnatal SVZ neurogenesis. *Nat Neurosci* 2014; **17**: 934-942.
- 41) Mudò G, Belluardo N, Mauro A, Fuxe K. Acute intermittent nicotine treatment induces fibroblast growth factor-2 in the subventricular zone of the adult rat brain and enhances neuronal precursor cell proliferation. *Neuroscience* 2007; **145**: 470-483.
- 42) Lester DB, Rogers TD, Blaha CD. Acetylcholine-dopamine interactions in the pathophysiology and treatment of CNS disorders. *CNS Neurosci Ther* 2010; **16**: 137-162.
- 43) Kaneko N, Okano H, Sawamoto K. Role of the cholinergic system in regulating survival of newborn neurons in the adult mouse dentate gyrus and olfactory bulb. *Genes to Cells* 2006; **11**: 1145-1159.
- 44) Höglinger GU, Rizk P, Muriel MP, Duyckaerts C, Oertel WH, Caille I, Hirsch EC. Dopamine depletion impairs precursor cell proliferation in Parkinson disease. *Nat Neurosci* 2004; **7**: 726-735.
- 45) O' Keeffe GC, Barker RA, Caldwell MA. Dopaminergic modulation of neurogenesis in the subventricular zone of the adult brain. *Cell Cycle* 2009; **8**: 2888-2894.
- 46) Kim Y, Wang W-Z, Comte I, Pastrana E, Tran PB, Brown J, Miller RJ, Doetsch F, Molnár Z, Szele FG. Dopamine stimulation of postnatal murine subventricular zone neurogenesis via the D3 receptor. *J Neurochem* 2010; **114**: 750-760.
- 47) O' Keeffe GC, Tyers P, Aarsland D, Dalley JW, Barker RA, Caldwell MA. Dopamine-induced proliferation of adult neural precursor cells in the mammalian

- subventricular zone is mediated through EGF. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; **106**: 8754-8759.
- 48) Tong CK, Chen J, Cebrián-Silla A, Mirzadeh Z, Obernier K, Guinto CD, Tecott LH, García-Verdugo JM, Kriegstein A, Alvarez-Buylla A. Axonal control of the adult neural stem cell niche. *Cell Stem Cell* 2014; **14**: 500-511.
- 49) Banasr M, Hery M, Printemps R, Daszuta A. Serotonin-induced increases in adult cell proliferation and neurogenesis are mediated through different and common 5-HT receptor subtypes in the dentate gyrus and the subventricular zone. *Neuropsychopharmacology* 2004; **29**: 450-460.
- 50) Soumier A, Banasr M, Goff LK-L, Daszuta A. Region- and phase-dependent effects of 5-HT (1A) and 5-HT (2C) receptor activation on adult neurogenesis. *Eur Neuropsychopharmacol* 2010; **20**: 336-345.
- 51) Lorez HP, Richards JG. Supra-ependymal serotonergic nerves in mammalian brain: morphological, pharmacological and functional studies. *Brain Res Bull* 1982; **9**: 727-741.
- 52) Moreno-López B, Noval JA, González-Bonet LG, Estrada C. Morphological bases for a role of nitric oxide in adult neurogenesis. *Brain Res* 2000; **869**: 244-250.
- 53) Moreno-López B, Romero-Grimaldi C, Noval JA, Murillo-Carretero M, Matarredona ER, Estrada C. Nitric oxide is a physiological inhibitor of neurogenesis in the adult mouse subventricular zone and olfactory bulb. *J Neurosci* 2004; **24**: 85-95.
- 54) Packer MA, Stasiv Y, Benraiss A, Chmielnicki E, Grinberg A, Westphal H, Goldman SA, Enikolopov G. Nitric oxide negatively regulates mammalian adult neurogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; **100**: 9566-9571.
- 55) Romero-Grimaldi C, Gheusi G, Lledo P-M, Estrada C. Chronic inhibition of nitric oxide synthesis enhances both subventricular zone neurogenesis and olfactory learning in adult mice. *Eur J Neurosci* 2006; **24**: 2461-2470.
- 56) Torroglosa A, Murillo-Carretero M, Romero-Grimaldi C, Matarredona ER, Campos-Caro A, Estrada C. Nitric oxide decreases subventricular zone stem cell proliferation by inhibition of epidermal growth factor receptor and phosphoinositide-3-kinase/Akt pathway. *Stem Cells* 2007; **25**: 88-97.
- 57) Mori T, Wakabayashi T, Ogawa H, Hirahara Y, Koike T, Yamada H. Increased Histone H3 Phosphorylation in Neurons in Specific Brain Structures after Induction of Status Epilepticus in Mice. *PLoS One* 2013; **8**: 1-15.