

研究課題別研究評価

1. 研究課題:神経突起のパターン形成におけるシグナリング機構

2. 研究者名:上村 匡

3. 研究のねらい

神経回路が正しく形成されるためには、ニューロンの細胞体から、軸索(出力装置)と樹状突起(入力装置)の2種類の神経突起が伸長し、それぞれが適切なパターンを形成しなければならない。軸索と樹状突起が細胞体から出芽する位置はどのように決定されているのだろうか。樹状突起の伸長・分岐のパターンはどのように調節されているのだろうか。本研究では、これらの分子機構の解明に取り組んだ。

4. 研究成果

生体内での神経突起の伸長・分岐形成などの機構を明らかにするには、モデル生物を用いた個体レベルでの解析が不可欠と考え、ショウジョウバエを材料に選択した。ショウジョウバエの神経系では、多極性を示すニューロン (multiple dendrite neuron ; md neuron) が同定されており、複雑に分岐する樹状突起と軸索とを識別して観察することが容易である。

アプローチの一つとして、神経突起のパターン形成に働く細胞間相互作用を想定し、新規の細胞膜表面レセプターを探索した。その結果、ニューロンで強く発現する7回膜貫通型分子を発見し、Flamingo と命名した。*flamingo* 遺伝子突然変異体を分離し、その系統の表現型を解析した結果、Flamingo は軸索と樹状突起の双方のパターン形成に重要な働きをすることが明らかになった。すなわち、軸索のパターン形成においては成長円錐の走行経路の選択や標的認識に必要であり、樹状突起の伸長においては過度の伸長を抑える。また研究開始当初は予想していなかったが、Flamingo は上皮平面内における細胞極性の調節因子でもあることを明らかにした。Flamingo は上皮の細胞間境界に存在するが一様には分布せず、特定の方向に沿って偏って存在し、しかもこの偏った分布が正常な極性形成に必須である。

また別のアプローチとして、レセプター様分子にこだわらず、md neuron に比較的限局して発現する遺伝子を探索し、その中からニューロンの極性形成または樹状突起のパターンを調節する遺伝子を分離しようと試みた。ショウジョウバエにおいて開発している発現パターンに基づいて遺伝子を探索する方法(エンハンサートラップ法)を採用し、約 4,500 株のトラップ系統を探索した結果、現在までに 20 余りの候補遺伝子に絞り込んだ。それぞれの遺伝子が期待する機能を担っているかを、以下の方針に基づき検証中である。1)すでに突然変異が分離されている遺伝子については、その変異体を取り寄せ、md neuron の突起パターンを調べる。

2)ホモ接合体が致死となるトラップ系統については、md neuron の突起パターンを調べる。この手法により、樹状突起の伸長を負に制御する遺伝子が分離できた。この遺伝子は Zn^{++} フィンガーモチーフを持つタンパク質をコードしていた。さらに、3)遺伝子破壊変異が分離されていなかったり、全くの新規の遺伝子については、2本鎖 RNA 干渉(double-stranded RNA interference ; RNAi)による遺伝子ノックアウトを計画しており、実験を進めている。

5. 自己評価

7回膜貫通型レセプター Flamingo の発見と遺伝学的解析により、神経回路研究のブラックボックスであった樹状突起のパターン形成機構の解明への足掛りが得られた。また、上皮平面内極性の研究においても、調

節因子の細胞内動態を明らかにし突破口を開いた。ただし、Flamingo の樹状突起の伸長における役割については、海外のグループに先に論文報告されてしまった。Flamingo の活性化機構や、下流のシグナル伝達経路の実体には不明な点が多く、今後の研究が必要である。また、ショウジョウバエを用いた本研究の成果が哺乳類に適用できるかを検証する目的で、マウスでのホモログ遺伝子をすでに認定しており、その解析にも力点を置きたい。

Flamingo 以外の遺伝子を探索するアプローチは、ようやくスクリーニングの最終段階に到達した。Flamingo に関する研究に比してこのアプローチに十分な労力を割けなかったことと、多数の系統を維持するためのスペースの整備が遅れたことが、具体的な成果を挙げられなかった原因である。

6. 領域総括の見解

複雑に分岐する樹状突起と軸索が識別可能なショウジョウバエの初期胚の神経系を対象に、そのパターン形成に焦点を当てた研究である。まずニューロンで強く発現する細胞膜結合タンパク質の Flamingo を同定し、軸索と樹状突起のパターン形成におけるその役割を明らかにし、さらにこれが上皮細胞の極性にも関わることを示した。この成果は、ほとんど未知であったこの分野での着実な進歩として評価される。また、緑色蛍光タンパク質を応用した簡便な方法を導入し、ニューロンで限定発現する遺伝子の検索を行い、多くの候補遺伝子を収集している。その解析による今後の成果が楽しみである。

7. 主な論文

- Uemura, T. (1998). The cadherin superfamily at the synapse: more members, more missions. *Cell* 93, 1095–1098.
- Usui, T., Shima, Y., Shimada, Y., Hirano, S., Burges, W. R., Schwarz, L. T., Takeichi, M., and Uemura, T. (1999). Flamingo, a seven-pass transmembrane cadherin, regulates planar cell polarity under the control of Frizzled. *Cell* 98, 585–595.
- 碓井理夫と上村 匡 (2000). 「平面内細胞極性形成の分子機構」 *細胞工学* 19, 1627–1633.
- Liu, B., Usui, T., Uemura, T., Jan, L., and Jan, Y.-N. (1999). Flamingo functions in the Frizzled pathway to control the orientation of asymmetric precursor divisions and the planar polarity of sensory bristles in *Drosophila*. *Current Biology* 9, 1247–1250.
- Takeichi, M., Nakagawa, S., Aono, S., Usui, T., and Uemura, T. (2000). Patterning of cell assemblies regulated by adhesion receptors of the cadherin superfamily. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 355, 885–890.

8. その他

招待講演 16件 うち国内14件、 国外2件
受賞、 特許出願なし。