

1. 研究課題名：中枢神経細胞が層構造を形成するメカニズム

- 神経細胞はどのように移動してその配置が決まるのか？ -

2. 研究者氏名：仲嶋 一範

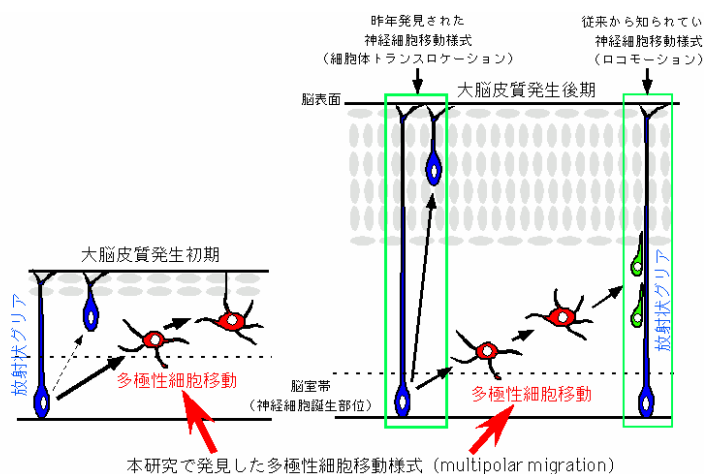
3. 研究の狙い：

我々の脳は、進化の最高傑作とも言われ、複雑な神経回路網を形成している。この複雑な構造も、最初は一層の細胞層であり、そこから次々に神経細胞が誕生し、長い距離を移動して、整然とした構造を形作っていく。例えば大脳皮質では、脳表面に平行な6層構造を作って配列しており、この秩序だった構造ができることは、脳の正常な機能のために必須であることが知られている。そこで、本研究では、大脳皮質の発生期において、神経細胞がその誕生部位からいかにして移動し、その配置が決まっていくのかの機構の解明を目指した。

4. 研究結果：

(1) 移動神経細胞に外来遺伝子を特異的に発現させ、可視化する技術の開発

移動神経細胞の配置が決まっていく過程について、従来解析が進んでいなかった最大の理由は、移動細胞を、周囲の(既に移動を終えた)成熟神経細胞から区別して同定する簡便な手法がなかったためである。そこで、本研究では、電気穿孔法を用いて、子宮内胎児脳に対する高効率で簡便な遺伝子導入法を確立し、移動神経細胞に特異的に任意の外来遺伝子を発現させ、かつ可視化できる系を開発した。移動を終了した成熟神経細胞には発現しないため、特に移動終了時に起こる現象を解析する上で重要な技術と考えられる。この手法を用いて、大脳発生過程の細胞移動を生きたまま継時観察した結果、多極性神経細胞への形態変化を含む、全く新しい移動様式(“多極性細胞移動” 図参照)を発見した。これは、特に発生初期には、全体の9割を占める重



要な移動様式であることも判明した。従来の移動様式のような、脳室帯(神経細胞誕生部位)から脳表面への縦方向の直線的な移動とは異なり、今回発見した移動様式では、多くの突起を周囲にさかんに伸縮させて、何らかの環境因子を探索しているかのように、縦にも横にも動くのが最大の特徴である。その誕生の瞬間を観察したところ、従来、細胞移動の足場とされていた放射状グリア自身が、その突起を

短縮させて、直接多極性神経細胞に変化することを発見した。また、その後は、従来型のロコモーション細胞(図右)に変化してから皮質板に入っていくことを見いだした。以上より、神経細胞移動は、従来考えられていたような単純なものではなく、ダイナミックに大きく形態を変化させながら達成されることが明らかになった。

(2) 神経細胞の最終配置の制御機構

移動神経細胞は、その終点(脳表面)において、リーリン分子によってその最終配置が制御される。本研究でそのシグナル伝達機構の解析を行った結果、リーリンは、細胞外でホモ二量体を作って機能し、この二量体形成は、リーリンのシグナル伝達上重要な意義を有することを見いだした。また、リーリンは、その受容体に結合後、細胞内のDab1分子の細胞内移行を引き起こすことによってチロシンリン酸化を誘導し、その機能を発現することを見いだした。さらに、リーリンは、細胞の移動終了シグナルと一般に考えられているが、上記の移動細胞可視化法を使って解析したとこ

る、細胞の分化に影響を与えることが強く示唆された。さらに、神経細胞は、脳室帯での細胞誕生直後に、すでに誕生時期依存的な相互の凝集機構を獲得していることを発見した。これは、脳表面で最終的に移動を終えて、誕生時期を共通にする細胞同士が集まって層を形成していく過程で重要な寄与をしている可能性が考えられた。

5.自己評価：

本研究では、大脳皮質神経細胞が層構造を作る機構を解明するために、1) 細胞誕生時における最終配置層についての運命決定、2) 誕生部位から最終配置部位への移動過程の制御、3) 移動終了地点における細胞外からの配置制御機構の3点からアプローチした。2) については、新たに開発した移動細胞の可視化法によって多くのことを明らかにできたと思われるが、1)、3) については、得られた知見は未だ断片的であり、全体のストーリーを構築するまでには至らなかった。本研究で開発した遺伝子導入法を駆使して、1) から2)、さらに3) に至る層形成過程を総合的に理解することが、今後の重要な課題と考えられる。

6.研究総括の見解：

哺乳類の脳は複雑な神経回路網から成っている。マウス胎児での大脳皮質の発生期を対象に、この形成過程が如何に進行するかを調べた。その研究過程で子宮内胎児の脳に対して電気穿孔法により外来遺伝子を導入し、移動中の神経細胞を可視化する方法を開発した。この方法により、従来考えられていた様相とは異なる多極性細胞移動と呼ぶ現象を発見し、大脳皮質が発生するプロセスを具体的に示した。さらに、この電気穿孔法には様々な応用が考えられ、今後の研究に大いに役立つと期待される。その成果の大きさは2件の学会賞と数多くの招待講演、また2件の特許申請に示される。

7.主な論文等：

1. Yip, J. W., Yip, Y. P. L., Nakajima, K., and Capriotti, C. (2000). Reelin controls position of autonomic neurons in the spinal cord. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 97, 8612-8616.
2. Utsunomiya-Tate, N., Kubo, K., Tate, S., Kainosho, M., Katayama, E., Nakajima, K., and Mikoshiba, K. (2000). Reelin molecules assemble together to form a large protein complex, which is inhibited by the function-blocking CR-50 antibody. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 97, 9729-9734.
3. Tabata, H., and Nakajima, K. (2001). Efficient in utero gene transfer system to the developing mouse brains using electroporation -- Visualization of neuronal migration in the developing cortex. *Neuroscience* 103, 865-872.
4. Kubo, K., Mikoshiba, K., and Nakajima, K. (2002). Secreted Reelin molecules form homodimers. *Neurosci. Res.* 43, 381-388.
5. Tabata, H., and Nakajima, K. (2002). Neurons tend to stop migration and differentiate along the cortical internal plexiform zones in the Reelin signal-deficient mice. *J. Neurosci. Res.* 69, 723-730.

その他

受賞：

- (1) 日本神経化学会第1回最優秀奨励賞 脳皮質形成のメカニズム ('00年10月)
- (2) 第5回上田英雄賞 脳神経細胞の配置決定のメカニズム ('01年4月)

招待講演 国内24件、海外7件

特許出願：

- (1) 「遺伝子導入動物の製造方法」(特開2002-65112号)
- (2) 「中枢神経組織の再生方法」(特願2002-335249号)