

研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名
脳の神経回路形成と可塑性の分子機構
2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名（研究機関名・職名は研究参加期間終了時点）

研究代表者	村上 富士夫	大阪大学大学院生命機能研究科 教授
主たる研究参加者	佐藤 真	福井医科大学医学部 教授
	五嶋 良郎	横浜市立大学医学部 教授
	小林 和人	福島県立医科大学 教授

3. 研究内容及び成果

神経結合の可塑性は、学習、記憶をはじめとする、脳の様々な高次機能を担っている。したがってその分子機構の解明は、脳の機能の仕組みを知る上で極めて重要な問題である。神経結合の可塑的变化が生じるときには軸索伸長、側枝の形成、標的認識、シナプス形成など、脳の発達期に起こる様々な現象が繰り返される。したがって神経回路形成を支える分子機構の解明はそのまま可塑性の分子機構の解明につながる可能性が高い。発達期の脳では、入力の一側性の損傷によりlateralityに可塑的变化が生ずることが良く知られている。

一方、本研究代表者らは発生期脳の神経管正中線にある底板が小脳遠心性線維に対して軸索誘引活性を有し、その成長円錐の正中線へのガイドに寄与している可能性を示した。さらに底板は中脳、後脳、髄脳、脊髄の全てのレベルの交連性ニューロンに対しても同様な活性を示し、これらのニューロンの腹側正中線へのガイドにも寄与していることを示した。さらに、底板が軸索反発活性をも有し、これがまた中脳から脊髄にいたる多種の非交叉性のニューロンのガイドに共通に寄与していることを示す証拠を得た。また軸索誘引の責任分子として脊髄の交連ニューロンに対する拡散性誘引因子として同定されたネトリンが有力な候補であるが、軸索反発活性にはネトリン以外の分子が寄与していることが明らかになった。このような背景のもとに本研究では交叉性神経回路形成のメカニズムの解明を目指した。またその成果に基づきlateralityの変更をとまなう神経結合の可塑的变化を支えるメカニズムの解明をも目標にした。

そのため拡散性ガイド因子の活性検出にはコラーゲンゲル培養法、トランスウェル培養法、全胚培養標本等生体内に近い環境を再現できるin vitro標本を用いて、それに様々な操作を加えることによって交叉性神経回路のガイド機構に迫ることとした。また分子生物学的方法による新規ガイド因子の役割、生体内でのガイド因子の役割を研究するためのモデル動物の開発を目指した。回路形成、可塑性研究グループでは正中線交叉後の軸索の挙動を制御する機構の解明をも含め、交叉性神経回路形成の機構をさまざまなin vitro標本を用いて解析することとした。ガイド因子探索グループでは、拡散性ガイド因子をはじめとする軸索ガイド関連因子について、分子生物学的手法を駆使して探索することとした。またガイド因子が成長円錐に作用しその行動を制御する機構を解明するためにはガイド因子の細胞内伝達機構を明らかにする必要がある。そこで細胞内伝達機構グループではその反発活性によって軸索ガイドに重要な役割を果たしていることが知られているSemaIII/collapsin-1に着目してSemaIII/collapsin-1によって惹起される細胞内情報伝達系の解明を目指した。またガイド因子の生体内での働きを知るには、全動物標本での解析が欠かせない。そのためトランスジェニック動物作製グループではガイド因子の候補やその関連分子の役割を明らかにするためのノックアウトマウス、また生体内での軸索走行を可視化するためのトランスジェニックマウスを作成することとした。

本研究の遂行の結果、軸索ガイドの機構に関するいくつかの基本原則が明らかになった。その中で最も重要なものは成長円錐の反応性の変化である。これまでは成長円錐はガイドキューに対して一定の反応性を有するものと受け止められていたが、我々の研究によりその反応性を動的に変えて行くものであることが明らかになった。成長円錐が正中線に到達したときには底板由来の誘引因子に対する反応性を失うことが、それを越えて更に進んで行くのに必須であることが明らかになった。またその後、吻尾軸に沿って伸びて行くがその際には基板に存在する誘引因子に対する反応性の新たな獲得が起こることを発見した。このように成長円錐の反応性の変化は交叉性神経回路の形成にとって極めて重要な役割を果たすことが示された。さらに、吻尾軸に沿った軸索の走行には背腹軸に沿うものとはことなり、拡散性の長距離作動性因子でなく基質に結合した局所的な因子が軸索ガイドに決定的な役割を果たしていることが明らかになった。一方、我々は交叉性神経回路の形成に関与する機構と共通する機構、すなわち底板による誘引が、正中線を越えて接線方向に移動する細胞の制御にも関与していることを見出した。さらに、移動細胞の底板誘引活性に対する応答性は底板と遭遇することによ

って変化し、ガイドキューに対する反応性の変化は細胞移動においても重要な役割を果たしていることを発見した。

その他視床－大脳系をモデルとしておこなった標的認識機構の研究では、軸索の伸長を制御する機構と枝分れを促進させる機構とが独立して働いていることが明らかになった。具体的には前者に関しては、浅層に存在するGPI結合型の成分と深層に存在するシアル酸の成分が大脳皮質での視床の軸索伸長を制御している可能性が示唆された。後者に関しては層特異的な膜結合型の因子が枝分かれの形成を担っていること、ならびにノイラミニダーゼによって除去されるシアル酸の成分が、標的層以外で軸索の分枝形成を抑制することによって層特異的な枝分かれの形成に貢献している可能性が示唆された。

ガイド因子探索グループ (佐藤)

以前、大脳皮質脊髄路の軸索が生直後ラットの橋核から分泌される未知因子に反応し皮質橋路の軸索を側副枝として形成することを見出したが、この責任遺伝子を探索し、発現パターンを時空間的に解析することにより、最終的にガイド因子の遺伝子候補として3種の遺伝子断片を得た。

細胞内情報伝達グループ (五嶋)

反発性の神経ガイド分子セマフォリン3A が、神経軸索反発活性を示す分子メカニズムを追求し、細胞内において情報を媒介する分子として、CRMP, Fyn, Cdk5, Fes, LIM キナーゼを同定した。そしてこれらが関与する分子機序を生化学的に検証する一方、fyn, cdk5, sema3A遺伝子ノックアウトマウスの表現型解析から、これらの分子の少なくとも一部は生体内において作動する証拠を得た。

トランスジェニック動物作製グループ (小林)

中枢カテコールアミンニューロンおよび運動ニューロンをモデルに、哺乳類脳において特定ニューロンの発生と神経回路の機能発達の分子機構を解明するため、主に、遺伝子改変マウスを用いた生体レベルでの遺伝子機能の解析に取り組んだ。具体的には、核内受容体 Nurr1 によるドーパミンニューロン特異的遺伝子の発現制御機構の解析を行ない、また、低分子量GTR結合タンパク質 Rho のシグナル伝達系の運動ニューロンの発生と神経回路形成における役割を解析し、運動ニューロンの生存および軸索パターン形成の制御機構に関与することを示唆する知見が得られた。第三に、中脳ドーパミンニューロンの発生と神経回路形成をリアルタイムでモニターするためのトランスジェニックマウス技術の開発を行なった。これの使用により、吻尾軸に沿った軸索の走行のメカニズムの解明が大きく進展した。

4. 事後評価結果

4-1. 外部発表(論文、口頭発表等)、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果の状況

軸索ガイド、神経細胞の移動、層特異的軸索伸展、枝分れ、標的認知など神経回路形成の基本的原理の理解が大きく進むと共に、ガイド因子探索の研究も新しい展開をみせ始めている。しかし、底板から成長円錐に向かって出てくると推定される誘引因子あるいは反発因子を同定しようとしたが成功しなかった。これに対してアメリカのグループがある程度の成功を収めている。

交叉性神経回路形成のメカニズムを解析するという当初の目標は軸索ガイドと細胞移動の両面から研究が進みほぼ達成したと思われる。しかし研究代表者も述べているように如何なる神経投射も標的に到達しなければ意味をなさないの標的認識の機構を研究目標に加え視床・大脳皮質系の研究を始めたのは非常に良かったがまだ初期の段階である。

質の高い論文がある程度数は発表された。実験技術の面で独自の開発がなされた点を評価すべきだろう。日本特許出願(2件)および外国特許出願(1件)が共同研究者によってなされている。

研究代表者の回路形成可塑性研究グループと共に、ガイド因子探索グループ、細胞内信号伝達グループ、トランスジェニック動物作製グループが加わったのは適切であった。分子探索グループがさらに大きくてもよかったと感じる。各サブグループは自分の領域でそれぞれ特色のある独創的成果を出している。主力は代表者グループである。

平成9-平成10年度に設備費が投入されて、その後は人件費とそれに見合った研究材料費・消耗品費が使われており、妥当である。設備への投資はほぼ期間の前半で終わり、人件費、その他のバランスも良い。

4-2. 成果の戦略目標・科学技術への貢献

さまざまな標本を用い交叉性神経回路形成の基本原則を得ようとしている。左右のみならず、吻尾軸への伸張に関する知見は興味深い。二次元展開器官培養の高度の技術と正確な観察に裏づけされた研究成果のインパクトは大きい。緑色蛍光蛋白質遺伝子の導入により、ドーパミンニューロンを可視化し、軸索伸長の様子をリアルタイムでモニターすることを可能にしたことは他にも応用が可能で、技術的インパクトを持つ。軸索ガイド機構に関連して成長円錐の反応性がダイナミックに変化するという発見はかなりのインパクトがある。

激しい国際競争下にあるが、形態学的解析と実験方法の開発では世界の先端を走っている。分子レベルでのさらなる発展を期待する。独自の実験手技と経験に支えられた研究である。

神経結合の可塑性の分子機構の解明は脳の機能の仕組みを知る上で極めて重要な課題である。中脳ドーパミン作動性ニューロンのガイド機構など、もし伝達物質やレセプターとの特異的な関連が得られれば興味深い。神経回路形成のプリンシプルを実験的に追究する研究であり、科学的にも技術的にも重要な成果が得られている。軸索ガイドだけでなく標的認識のメカニズムの解明が重要である。

細胞移動のメカニズム、層特異的軸索伸長など、分子レベルでの発見を期待する。現在進んでいる subtraction cloning など分子メカニズムが解明されることを期待する。さまざまな組織、器官回路における細胞移動の様相をとらえ、部分的に重要な知見は得られているが、その共通性や差異を明らかにすることが重要と考えられる。しかし、焦点が絞りきれず、誘引因子あるいは反発因子の同定のためには化学グループが十分強力でなかったのではないのかという批判があった。

4 - 3. その他の特記事項

神経回路網形成の分子機構を成長円錐の反応性の変化から追求したアプローチは独創的であり、新しい方法論の開発も発見した。形態的現象も高く評価できる。さらに軸索走行と細胞移動のメカニズムを分子レベルで解明して、物質レベルでの発見ができれば本研究の成果は極めて大きいものとなるであろう。意義のあるプロジェクトに取り組み成功しなかったのは仕方がないが、Focus をもっと絞るべきではなかったのか。

[<<脳を知るトップ](#)

This page updated on September 12, 2003

Copyright(C)2003 [Japan Science and Technology Corporation](#)