

## 研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： 細胞内パターンニングによる組織構築
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

広海 健 (情報・システム研究機構 国立遺伝学研究所 教授)

主たる共同研究者

五嶋 良郎 (横浜市立大学大学院医学研究科 教授)

3. 研究内容及び成果

組織構築に寄与するためには、細胞は集団の中で「位置」を知り、れに見合った運命決定や形態分化を行わなければならない。従来の発生生物学では、細胞の形態分化は細胞集団の中の位置情報の「下流」の現象としてとらえられてきた。しかし、神経細胞のように長い細胞突起を持つ細胞では、軸索や樹状突起などの細胞突起の一領域に分子を局在させることによって、組織全体のパターン形成のための位置情報を提供できるはずである。すなわち、突起内の分子局在は、組織構築を指令する「上流」の現象となりうる。研究代表者らはこのような細胞特性に着目し、「細胞内パターンニング」という名の下に組織構築に新しい視点を持ち込んだ。

### 「軸索内パターンニング」現象の発見

新しい細胞内パターンニング現象の候補として、研究代表者らはタンパク質の軸索内局在に着目した。生体内において、軸索ガイド因子受容体をはじめとする多くの膜タンパク質が軸索の特定の領域にのみ局在していることは古くから知られていた。このような局在パターンは軸索の束が特定の経路を形成している場所で見られることが多いため、この現象は軸索の接着の「結果」であると考えられてきた。軸索内の膜タンパク質局在が細胞自立的に制御されている可能性を追求するために、研究代表者らは初代培養したショウジョウバエの神経細胞の系を開発し、培養下で他の細胞との接触なしに伸張した軸索内に特定の膜タンパク質が局在できるか否かを検討した。その結果、組織から単離された神経細胞においても複数の膜タンパク質が細胞自立的に軸索の近位部あるいは遠位部の領域に局在することを見いだした。近位部、遠位部領域にはそれぞれ複数種のタンパク質が局在しており、近位部と遠位部のパターンは相補的だった。このことは軸索が近位部、遠位部の二つの区画に分けられており、これらの区画は膜タンパク質の軸索内局在の「ユニット」として働くことを示している。軸索を二つの区画に分け、それぞれそれぞれの区画に特定のタンパク質を配置するという現象を、研究代表者らは「軸索内パターンニング」と名付けた。

特定のタンパク質が特定の区画に配置される機構を解析し、軸索内パターンは遺伝子発現の時間的制御によって作られるのではなく、遺伝子産物そのものが区画特異的配置のための情報を有していることを見いだした。区画特異的配置には小胞輸送と選別が関与している可能性が高い。区画の境界領域では膜タンパク質の動きが制限されていた。これは軸索膜が近位部、遠位部の二つの膜区画 (membrane compartment) に分けられていることを示している。軸索内パターンは区画境界の拡散障壁によって維持されていると考えられる。

### 神経突起内の分子局在の意義

軸索内パターンニングのような神経突起内の分子局在現象は、様々な形で神経系の形成や機

能に寄与している可能性が高い。研究代表者らは神経回路形成に着目し、そこでの神経突起内の分子局在現象がどのような役割を果たしているかを解析した。

### **【軸索に提示されたガイド情報に対する応答性の調節機構】**

軸索内局在によるガイド情報配置は、「既存の軸索束」という位置情報を他の軸索の誘導に有効に使う方法ではあるが、一つの問題が生じる。それは、高等動物の神経系が体節というモジュールの繰り返し構造を基盤にしていることから生じる「境界問題」である。たとえば、縦走神経軸索は Frazzled が横行神経の軸索内局在によって作り上げる Netrin 分布によってモジュール「内」の道筋をたどった後、体節境界を越えて次のモジュールへの接続を行わねばならない。そのためにはモジュールの境界において横行神経軸索によって提示された Netrin による軸索ガイド情報を無視する必要がある。モジュール境界において、軸索ガイド情報に対する行動をどのようにしてスイッチングするのかは知られていなかった。研究代表者らは、縦走神経は軸索がモジュール境界に到達したときに軸索ガイド受容体である ROBO 発現することによって提示された Netrin に対する反応性を抑制（無効化）していることを見いだした。ROBO の変異体においては Netrin に対する反応性が持続するため、体節境界において縦走軸索が横行神経に添って正中線に向かって投射してしまう。ROBO のリガンドである Slit は、これまで考えられていたように正中線からの反撥場を作っているのではなく、軸索上に存在して ROBO シグナルの量的調節を行っていることも判明した。この結果により、軸索に提示されたガイド情報に対する応答性の調節機構が明らかになるとともに、回路モジュールの「集積化」という複雑性を可能にする戦略にも重要な示唆を与えた。

### **【樹状突起内の局所的酵素活性によるブルーニング制御】**

軸索内の分子局在だけでなく、樹状突起内の分子局在も神経細胞内の局所的行動に重要な情報を与える。樹状突起内の局所的現象の一例として、研究代表者らは樹状突起のブルーニング（刈り込み）を取り上げた。ショウジョウバエの感覚神経細胞の多くは蛹期の神経細胞リモデリング期に一部の樹状突起が除去される。研究代表者らは、ブルーニングでの樹状突起断片の除去には細胞死の遂行を司るタンパク質分解酵素 caspase が必要であることを示した。さらに、caspase 活性を可視化するプローブを開発し、ブルーニング期に除去される樹状突起に局限して caspase が活性化されていることを見いだした。上流からのシグナルによって caspase が細胞内で局所的に活性化され、それが貪食細胞に認識されるためのシグナルを作り出していると考えられる。

## **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**

提案課題を解明するための関連成果は優れた専門誌に発表されている。特に軸索ガイド因子 ROBO の局在が軸索走行の決定に重要であることを示した論文 (Nature Neurosci. 2006) は高く評価できる。この研究は、ショウジョウバエでは体節ごとに同じパターンの繰り返しが行われているのに、ある特定の軸索は体節間を越えて次の体節まで軸索を伸ばすという現象に明快な分子機構の理解を与えた点で注目される。昆虫の体節間接続の問題に限らず、哺乳類脳であっても神経系の複雑な構造は、より多数の単純なモジュールを構築する分子細胞生物学的機構に加えて、モジュール間を接続する分子機構が働くことによって構築されているものと考えられる。このようなショウジョウバエのより単純な現象の解明が、細胞内パターンニングと関係するということは興味深い。その他にもまた、学会発表やシンポジウム発表で見限り多くの興味深い知見が得られている。しかし、提案課題の「細胞内パターンニング」という概念自体が研究代表者によって新しく提案されようとしているものであ

り、それに関する説得力のある論文の発表にはまだ到っていない。このような概念の提案の確立にはもう少し時間をかける必要がある。

#### 4 - 2 . 成果の戦略目標・科学技術への貢献

研究代表者が主張する「細胞内パターンニング」という独創的な概念は、従来の学問の枠内でも細胞内の分子の局在化とその機能という意味でならある程度明らかにされてきたものである。しかし研究代表者の意味するところは、ショウジョウバエの神経細胞の初代培養系に見られる軸索内の「区画」への特定分子の局在が、従来考えられていた他の細胞や軸索との相互作用で生じた受動的なものではなく、細胞自律的な現象で、むしろ他の細胞に位置情報を提供する能動的な機能を持つことを示すものである。別言すれば、個々の細胞の自律的な機能の全体構造への貢献という概念を確立したいというものであると思われる。このような新しい概念に基づく提案は興味深いが、その普遍性の確立にはもう少し時間がかかる。しかし、区画の境界領域の脂質の流動性変化など重要な未発表の発見が既になされており、今後の発展が待たれる。今後は区画化形成の分子機構を明らかにするべく努めるとともに、哺乳類神経細胞なら樹状突起と軸索という構造的分化をしている機構と、ショウジョウバエなど無脊椎動物ではその分化がないことと関係するのか、研究代表者も実験結果を得ているように軸索輸送と区画化の関係の明確化、ショウジョウバエを用いるならこの細胞内パターンニングに異常を起こす突然変異体の探索と解析、初代培養系内での特定の同定されたニューロンを用いた厳密な解析などをすすめて概念の精密化をはかり、その応用可能範囲と意味を明らかにする必要がある。このような考えを発展させて、従来の常識に挑戦することは本領域の目標に十分合致するものである。哺乳類神経再生の過程や、神経回路形成と関係する事象を細胞内パターンニングという観点から見直すなどの発展によって、さらなる貢献を期待したい。

#### 4 - 3 . その他の特記事項(受賞歴など)

特記事項なし