

「脳を知る」

平成9年度採択研究代表者

村上 富士夫

(大阪大学大学院生命機能研究科脳神経工学 教授)

「脳の神経回路形成と可塑性の分子機構」

1. 研究実施の概要

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。したがって神経結合の可塑性の分子機構の解明をおこなうためには、神経回路形成の分子機構を明らかにし、それを手掛かりに研究を進めてゆくことが有効な手段である。

発達期の脳では、入力の一側性の損傷により投射の laterality に可塑的变化が生ずることが良く知られている。そこで本研究では投射の laterality を制御するメカニズム、すなわち交叉性神経回路を初めとする脳の基本回路の形成機構およびそれに関連する現象を支える基本メカニズムを明らかにし、その分子機構に迫ることを目標に研究を進めてきた。

その結果、中脳、後脳における交叉性投射、非交叉性投射の形成に底板由来拡散性因子による誘引、反発が重要な役割を果たしていること、ネトリン-1がその誘引活性を担っている可能性が高いことを明らかにした。また底板による成長円錐の反応性の制御が働き、これにより成長円錐が反対側にすすんでゆくことが出来ることを示した。また前後軸に沿った投射の形成にはそのような拡散性因子は重要ではなく、局所的に働く因子の勾配を持った分布が軸索伸長の方向性を決めていることを明らかにした。

現在底板による反応性の変化の制御の分子機構、前後軸に沿った軸索の走行の極性を決める分子機構に迫るべく研究を進めており、いくつかの候補分子について解析を進めている。

2. 研究実施内容

交叉性神経回路形成のメカニズム

神経管を構成する基本回路の一つは神経管の周囲に沿って伸びるものであり、その多くは腹側正中線で交叉する。我々は、後脳の交叉性ニューロンの軸索が底板由来の拡散性軸索誘引因子によって誘引されること、軸索が正中線を通過する際、底板由来因子に対する反応性を失うことを明らかにした。また交叉性ニューロンの成長円錐は交差後直角に曲がり、前後軸に沿って伸展するが、そのような変化には底板との相互作用により、神経管の基板に分布すると考えられるガイド因

子への反応性の新たな獲得が重要な役割を果たしていることを明らかにした。

いっぽう、我々は後脳で正中線を越えて移動する神経細胞の移動の機構を解析し、これらの細胞がやはり底板に誘引され、底板通過時に誘引活性への反応性の変化が起こっていることを見出した。そこでこれを正中線を軸索が通過するときに軸索に起こる分子的变化を捉えるための手段として用いることとし、subtractive PCR を用い、移動細胞に特異的に発現し、正中線を越える時に変化を示す分子を探索を開始した。

前後軸に沿って走行する軸索走行制御のメカニズム

神経管を構成する第2の基本回路は神経管に平行に走行するものである。その一部は上行し、一部は下行する。我々はこれまで中脳ドーパミン作動性ニューロンをモデル系として神経管の吻尾軸に沿った軸索走行の極性のメカニズムの研究をおこなってきた。その結果、中脳基質に存在する局所的なキューが重要な役割を果たすことを示した。しかしこれまでその分子的基盤は不明であった。極性を示す重要な候補として、峽のオーガナイザー活性の下流にある分子の寄与が考えられる。その可能性を検討するため、全胚培養系を用いて峽のオーガナイザー活性を担う分子のひとつである FGF8 を付着させたビーズを埋め込んで培養をおこなったところ、予想通りドーパミン作動性ニューロンの軸索の走行に乱れが生じた。現在 FGF8 下にありドーパミン作動性ニューロンの軸索走行を制御する分子の探索をすすめている。

3. 研究実施体制

回路形成、可塑性研究グループ

研究分担グループ長:村上富士夫(大阪大学大学院生命機能研究科・教授)

研究項目:

脳の神経回路形成と可塑性の分子機構:交差性神経回路形成の機構の解明。

脳の基本回路形成 及び laterality の変更を伴うような可塑性のメカニズムの解明。

岡崎国立協同研究機構 基礎生物学研究所

前脳における交差性神経回路形成のメカニズム:前脳における交差性神経回路形成のメカニズムを分子生物学的方法を用いて研究。

ガイド因子探索 グループ

研究分担グループ長:佐藤 真(福井医科大学・教授)

研究項目:

回路形成因子の探索:動物細胞を用いた高効率シグナルシークエンストラップ法を応用した回路形成因子の検索とノックアウトマウスを用いた回路形成・成熟に関わる Otx-1 分子カスケードの解明。

新規神経上皮発現分子を中心とした神経系の分化、形成機構の解明。

細胞内信号伝達 グループ

研究分担グループ長:五嶋良郎(横浜市立大学医学部・教授)

研究項目:

セマフォリン 3A のシグナル伝達機構におけるリン酸化酵素の役割

軸索ガイド分子伝達機構におけるチロシンフォスファターゼの役割

線虫 UNC 関連分子の分子機構の解明

トランスジェニック動物作製 グループ

研究分担グループ長: 小林和人(福島県立医科大学・教授)

研究項目: 遺伝子改変マウスを用いた神経回路形成の分子機構の解析

4. 研究成果の発表

(1) 論文発表

<村上グループ>

- Shirasaki, R. and Murakami, F.: Crossing the Floor Plate Triggers Sharp Turning of Commissural Axons. *Developmental Biology*, 236, 99-108 (2001)
- Otsuka, T., Murakami, F. and Song, W.-J.: Excitatory postsynaptic potentials trigger a plateau potential in rat subthalamic neurons at hyperpolarized states. *J. Neurophysiol.*, 86, 1816-1825 (2001)
- Saito, Y., Katsumaru, H., Wilson, C.J., Murakami, F.: Light and Electron Microscopic Study of Corticorubral Synapses in Adult Cat: Evidence for Extensive Synaptic Remodeling During Postnatal Development. *J. Comp. Neurol.*, 440, 236-244 (2001)
- Sawamoto, K., Nakao, N., Kobayashi, K., Matsushita, N., Takahashi, H., Kakishita, K., Yamamoto, A., Yoshizaki, T., Terashima, T., Murakami, F., Itakura, T., Okano, H.: Visualization, direct isolation, and transplantation of midbrain dopaminergic neurons labeled with a TH-GFP transgene. *PNAS*, 98, 6423-6428 (2001)
- Maeda, S., Inagaki, S., Kawaguchi, H. and Song, W.-J.: Separation of signal and noise from in vivo optical recording in guinea pig using independent component analysis. *Neurosci. Lett.*, 302, 137-140 (2001)
- Yamamoto, N.: Cellular and molecular basis for the formation of lamina-specific thalamocortical projections. *Neurosci. Res.*, 42, 167-173 (2002)
- Song, W.-J.: Genes responsible for native depolarization-activated K⁺ currents in neurons. *Neurosci. Res.*, 42, 7-14 (2002)

国際シンポジウム招待講演

- 村上富士夫: Cellular Mechanisms Underlying Axon Patterning of Midbrain Dopaminergic Pathway. Joint Congress, The 5th International Conference on Progress in Alzheimer's and Parkinson's Disease, The 9th International Catecholamine Symposium, Kyoto, 2001.4.2.
- 村上富士夫: Roles of the floor plate in transmedian migration of precerebellar neurons. 第14回国際発生物学会大会、Kyoto, 2001.7.11.

- 村上富士夫: Migration of GABAergic neurons in fetal mouse telencephalon-in vivo and in vitro analysis of GAD67-GFP knock-in mice-. The 28th NIPS International Symposium "Inhibitory Neural Transmission in Development and Plasticity, Okazaki, 2002.2.26.

<佐藤グループ>

- Tanaka, M., Miyoshi, J., Ishizaki, H., Togawa, A., Endo, K., Matsubara, K., Mizoguchi, A., Nagano, T., Sato, M., Sasaki, T. and Takai, Y.: Role of Rab3 GDP/GTP exchange protein in synaptic vesicle trafficking at the mouse neuromuscular junction. *Mol. Biol. Cell*, 12,1421-1430 (2001)
- Takamura, Y., Yagi, H., Hase, K., Yoneda, T., Maeda, M., Akagi, Y. and Sato, M.: JDD1, a novel member of Dna J family, expressed in the germinal zone of the rat brain. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 285,387-392 (2001)
- Suzuki, F., Taniguchi, T., Nakamura, S., Akagi, Y., Kubota, C., Sato, M. and Muramatsu, M. :Distribution of alpha-1 adrenoceptor subtypes in RNA and protein in rabbit eyes. *Br. J. Pharmacol.*, 135, 600-608(2002)

<五嶋グループ>

- Kagoshima M, Ito T, Kitamura H, Goshima Y.: Diverse gene expression and function of semaphorins in developing lung:positive and negative regulatory roles of semaphorins in lung branching morphogenesis. *Genes to Cells*, 6, 559-571 (2001)
- Lee S, Kim JH, Lee CS, Kim JH, Kim Y, Heo K, Ihara Y, Goshima Y, Suh PG, Ryu SH. Collapsin Response Mediator Protein-2 Inhibits Neuronal Phospholipase D2 Activity by Direct Interaction. *J Biol Chem.*, 277,6542-6549 (2002)

総説

- 佐々木幸生、五嶋良郎: ガイダンス分子のシグナル伝達. *細胞工学*, 20,530-537, 2001.
- 中村史雄、五嶋良郎: 神経回路形成とチロシンフォスファターゼ. *細胞工学*, 20: 873-881, 2001.

<小林グループ>

- Sawamoto, K., Nakao, N., Kobayashi, K., Matsushita, N., Takahashi, H., Kakishita, K., Yamamoto, A., Yoshizaki, T., Terashima, T., Murakami, F., Itakura, T., Okano, H.: Visualization, direct isolation, and transplantation of midbrain dopaminergic neurons labeled with a TH-GFP transgene. *PNAS*, 98, 6423-6428 (2001)
- Kobayashi, K. and Yasoshima, Y.: The central noradrenaline system and memory consolidation. *Neuroscientist*, 7, 371-376 (2001)
- Kobayashi, K. and Kobayashi, T.: Genetic evidence for noradrenergic control of long-term memory consolidation. *Bain Dev.*, 23, S16-S23 (2001)

(2) 特許出願

国内1件