

## 研究課題別 事後評価結果

1. **研究課題名:** 脳における神経回路形成と細胞移動

2. **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)

### 3. 研究内容及び成果

本研究は、神経回路形成の機構と細胞移動の機構との関係を明らかにし、それらを統合的に理解することを目指した。

細胞移動の機構を解明するためには、固定標本の観察だけでは不十分であり、移動のダイナミクスを明らかにする必要がある。そこで本研究では前脳、後脳の神経細胞を用い、移動のダイナミクスの解析を進めた。その知見を基に、*in utero* (子宮内)電気穿孔による遺伝子導入、遺伝子改変動物の利用、スライスあるいは展開脳標本の操作を駆使し、細胞移動のメカニズムと回路形成との関係の解明を目指した。

本研究では主に、1)大脳皮質の神経細胞、2)後脳の小脳前核を形成する神経細胞、の2つの実験系を用いて研究を進めた結果、以下の発見があった。

#### 1) 大脳皮質の神経細胞の移動

) *In utero* 並びに、*in vitro* エレクトロポレーション法を用いることにより、GFP遺伝子を大脳皮質の脳室層の細胞に導入することに成功し、以下の結果を得た。

大脳皮質の脳室層で生まれた細胞は法線方向に移動し、錐体細胞へと分化する。またこれらの細胞を生み出す細胞はこれまで放射状グリアと呼ばれていた細胞である。

この移動の過程において、後から生じた細胞の放射状グリアに沿った移動にはサイクリン依存性キナーゼ(cdk5)が関与している。

) 一方、GAD67-GFPマウス、電気穿孔による蛍光タンパク質遺伝子の脳基底核原基への導入により、GABA(Gamma-AminoButyric Acid)作動性局所回路ニューロンの移動様式を明らかにした。

大脳基底核原基から皮質に進出したGABAニューロンは主に中間体を通して皮質内に進入する。

の一部は表面に向かって動き、辺縁帯に移動する。

辺縁帯に到着した後は、特定の方向ではなく多方向に、そして長距離に亘って移動する。

の細胞は長時間(数日)に亘って辺縁帯に滞留し、その後皮質板に向かって下りる。

これらの事実は神経細胞の移動の概念を変えるものである。すなわち、移動細胞には特定の方向性があると考えられてきたが、研究代表者らの発見は移動の途中に細胞が移動方

向を変化させる過程があることを示しており、全く予期せぬ結果が得られた。

## 2) 後脳における神経細胞移動と神経核形成のメカニズム

後脳の菱脳層由来の神経細胞を用いて移動と神経核形成のメカニズムの研究を推進し、神経核形成の過程の可視化に成功すると共に、その分子機構の一端を明らかにした。具体的には、第四脳室にegfp遺伝子を導入し、電気穿孔法を適用することで細胞を標識して移動を追跡した。その結果、後方のルートを移動する外側網様核と外楔状束核は、これまでの報告の通り反対側に神経核を形成した。一方、前方のルートを移動する橋核と橋被蓋網様核を形成するニューロンは一部が正中線を交差し、反対側にも神経核を形成した。また、いずれの移動細胞も移動方向を水平方向から法線方向に変化させ、脳幹の深部に向かって移動して神経核を形成した。興味深いことに法線方向に向かう際には放射状グリアの突起に沿って細胞が移動している様子が観察された。このように神経核形成は単に移動細胞がその移動を停止させるのみでなく、移動の様式を複雑に変化させることによって実現されることが明らかにされた。

## 3) 神経回路の形成との比較

GABAニューロンが辺縁帯で一定時間を過ごす事実は軸索の挙動と類似していること、その一方で軸索の場合、本研究で観察されたような多方向に移動方向を変化させる動きをする例は存在せず、両者の細胞移動機構には明らかに違いがあることを意味する等、興味深い結果を得た。

さらに、後脳の小脳前核細胞の移動に関しては共通性が見られた。小脳前核細胞が正中線を交差する前にはSlitの受容体であるRobo1もRobo2も発現しておらず、交差後に初めてその発現が認められる。またRobo3に関しては交差前から発現している。このような発現パターンとその変化は脊髄の交連性線維の示すものと同様であり、軸索の成長円錐と移動細胞とで正中線の交差の機構に共通性があることを示唆するものである。また細胞移動への関与が知られているEphrin/Ephシステムが後脳における軸索伸張の方向決定にも関与していることが明らかにされた。

以上のように、研究代表者らは分子標識による細胞可視化の技術と培養技術を駆使して、神経回路形成に先立つ細胞移動のダイナミクスを見事に捉え、大脳皮質の錐体細胞とGABAニューロンの移動のメカニズムを明らかにして、多くの新しい知見を得た。

## 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

査読付きの国際誌に数多くの論文が発表されている他、口頭発表、招待講演等も多数あり、充実している。特許は「細胞移動調節及び細胞死調節機能を有するタンパク質」が出願された。

本研究で開発された細胞動態の可視化技術等は極めて優れており、これらの新技術により、脳の発生の機構解明に関して国際的な大きな貢献をなし遂げた。

#### **4 - 2 . 成果の戦略目標・科学技術への貢献**

神経細胞の移動や神経回路形成の *in vitro*, *in vivo*での可視化技術の開発では国際的にも最先端の成果を上げており、その独創性、新規性、有用性は極めて優れている。この研究成果の技術的インパクトは非常に高く、これらの新技術により、脳の発生の機構解明に関して国際的な貢献をしている。今後の研究により、神経回路形成の分子機構の解明に向けさらに大きな成果を得られることが期待される。

#### **4 - 3 . その他の特記事項(受賞歴等)**

なし