

「脳神経回路の形成・動作原理の解明と制御技術の創出」  
平成 21 年度採択研究代表者

H24 年度 実績報告
----------------

後藤 由季子

東京大学分子細胞生物学研究所・教授

神経幹細胞の分化ポテンシャル制御による神経回路構成素子の形成メカニズム

## §1. 研究実施体制

### (1) 後藤グループ

① 研究代表者: 後藤 由季子 (東京大学分子細胞生物学研究所、教授)

### ② 研究項目

- ・胎生期の神経幹細胞運命制御メカニズムについて
- ・成体神経幹細胞の起源について

## §2. 研究実施内容

### 研究項目1:胎生期の神経幹細胞運命制御メカニズムについて

神経回路の構成素子である様々なニューロンとグリア細胞は、共通の「神経幹細胞」から発生時期依存的に順次産み出される。それぞれの種類の細胞が必要な場所に必要な数存在することは、神経回路形成の基盤として非常に重要である。そこで項目1では、神経幹細胞が発生過程で運命転換するメカニズムについて、ポリcomb群タンパク質 (PcG) の制御と役割を中心に検討する。

#### (1) 運命転換における PcG ターゲットの同定

本研究の開始までに PcG が発生時期依存的な種々の運命転換に関与している事を示す結果を得ていたが、いかなるターゲット遺伝子の制御が運命転換に重要であるかについては必ずしも明らかではなかった。そこで発生時期依存的な神経幹細胞の PcG ターゲットを網羅的に同定する試みを行った。その結果、神経幹細胞の運命転換に伴って発現量が減少する遺伝子の中で、その発現減少と同時期に H3K27 トリメチル化量が上昇し、かつ PcG 不活性化 (Ring1B 遺伝子破壊) で発現減少が起こらなくなる遺伝子に注目し、約 60 の「神経幹細胞 PcG ターゲット候補遺伝子群」を得た。この遺伝子群の中には、HMGA2, IMP2 などニューロン分化に関わる遺伝子も含まれていた (Kishi et al. Nat. Neurosci. 2012; Fujii et al. Genes Cells 2013)。

#### (2) PcG の時期依存的、遺伝子座依存的な制御メカニズムの解析

神経幹細胞のそれぞれの運命転換において PcG がいかにして「時期特異的」「遺伝子座特異的」にターゲットを抑制しているのかが、正しい時期に正しい運命を持つ細胞をいくつ生み出すかを決定する鍵となる。そこで Neurog1 遺伝子座をモデルとして時期特異的な PcG リクルートメカニズムについて検討した。その結果、(i) Neurog1 遺伝子座の制御に関わる enhancer のひとつから転写される non-coding RNA (utNgn1 と呼ぶ) を見出し、これが Neurog1 遺伝子発現に必須であること、PcG によって抑制されることを見出した (Onoguchi et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2012)。

### 研究項目2:成体神経幹細胞の起源とその増殖・分化制御について

成体においても神経幹細胞は(特定の場所においてのみ)生涯にわたってニューロンを生み続けている。これらの新生ニューロンは既存の神経回路に組み込まれ、記憶、適応応答に寄与すると考えられている。そこで本年度は項目2において(1)いかにして成体でのニューロン産生量や分化能がコントロールされ、そして(2)いかにして成体神経幹細胞が生涯に渡り長期維持されているか、を検討する。

#### (1) 成体神経幹細胞のニューロン新生効率を制御するメカニズム

成体ニューロン新生の効率を制御するメカニズムとしては、これまで新生ニューロンの生存や成熟過程に焦点があてられてきた。本研究では、幹細胞の増殖頻度もニューロン新生効率を決める要因となっている可能性を検討し、成体神経幹細胞の分裂頻度の低さを担う p57 を遺伝子破壊すると実際にニューロン新生効率が上昇することを示した (Furutachi et al. EMBO J. 2013)。運動

などにより生体内でニューロン新生効率が上昇する際には p57 のレベルが低下しており、p57 が低い状況では運動によるニューロン新生の上昇が起きなくなっていた。従って、p57 レベルは新生ニューロンの産生効率を決める第一ステップ (gate keeper) であると考えられる。

### (2) 成体神経幹細胞の長期維持メカニズム

(i) 本研究では、成体神経幹細胞の低い分裂頻度が長期維持に寄与する可能性についても検討した。その結果、p57 を遺伝子破壊して神経幹細胞の分裂頻度が高くなった場合、2年後には神経幹細胞のプールサイズが減少していることを明らかにした (Furutachi et al. EMBO J. 2013)。従って、分裂頻度を低くすることで成体神経幹細胞プールの枯渇を防いでいると考えられる。

(ii) 成体神経幹細胞の長期維持メカニズムとしては、未分化維持シグナルを供給するニッチシグナルも関与していると考えられる。しかし、どの分子がそのニッチシグナルであるのか、またいずれの細胞がそのニッチシグナルを供給しているのかは不明であった。これまで Notch シグナルが成体神経幹細胞を長期に維持するのに必須の未分化維持シグナルであることが報告されていたが、本研究で我々はその際の Notch リガンドが Delta-like 1 (Dll1) であることを明らかにした。そして重要なことに、Dll1 というニッチシグナルを供給している細胞は神経幹細胞の姉妹細胞 (あるいは子孫の細胞) であることを見出した (Kawaguchi et al. Nat. Comms. In press)。

(iii) 幹細胞が分裂する際に、幹細胞 + 分化細胞の非対称分裂をすれば、分裂を経ても必ず同じ数の幹細胞が維持されることになる。成体神経幹細胞でも非対称な運命決定が行われていることが予想されていたが、実際に非対称分裂が起きているのか、起きているなら何がその非対称な運命決定を決めるトリガーとなっているのかについては不明であった。本研究では、Dll1 が神経幹細胞の分裂中に片側の娘細胞に非対称に分配されることを見出した。Dll1 は上述のように隣接細胞に対しては Notch を活性化し未分化維持のニッチシグナルとして働く一方で、自身の細胞に対しては分化誘導シグナルとして働く。即ち、Dll1 が長年探されていた神経幹細胞の非対称な運命を決定するトリガー分子であることが強く示唆された (Kawaguchi et al. Nat. Comms. In press)。

## §3. 成果発表等

### (3-1) 原著論文発表

#### ● 論文詳細情報

1. Furutachi S, Matsumoto A, Nakayama K.I, Gotoh Y (2013) p57 controls adult neural stem cell quiescence and modulates the pace of lifelong neurogenesis. EMBO J. 32 : 970-981. (DOI: 10.1038/emboj.2013.50.)
2. Itoh Y, Moriyama Y, Hasegawa T, Endo T.A, Toyoda T, Gotoh Y. (2013) Scratch regulates neuronal migration onset via an epithelial-mesenchymal transition-like mechanisms. Nat. Neurosci. 16 : 416-425. (DOI: 10.1038/nn.3336.)

3. Fujii Y, Kishi Y Gotoh Y. (2013) IMP2 regulates differentiation potentials of mouse neocortical neural precursor cells. *Genes Cells*. 18 : 79-89. (DOI:10.1111/gtc.12024.)
4. Higuchi M, Kihara R, Okazaki T, Aoki I, Suetsugu S, Gotoh Y (2013) Akt1 promotes focal adhesion disassembly and cell motility through phosphorylation of FAK in growth factor-stimulated cells. *J. Cell Sci*. 126 : 745-755 . (DOI: 1242/jcs.112722.)
5. Kishi Y, Fujii Y, Hirabayashi Y, Gotoh Y. (2012) HMGA proteins regulate global chromatin state and the neurogenic potential in neocortical precursor cells. *Nat. Neurosci*. 15 : 1127-1133. (DOI:10.1038/nn.3165)
6. Onoguchi M, Hirabayashi Y, Koseki H, Gotoh Y (2012) A noncoding RNA regulates the neurogenin1 gene locus during mouse neocortical development. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 109 : 16939-16944. (DOI:10.1073/pnas.1202956109.)
7. Aoki I, Higuchi M, Gotoh Y (2012) NEDDylation controls the target specificity of E2F1 and apoptosis induction. *Oncogene* 20 : 1-11. (DOI:10.1038/onc.2012.428.)
8. Kawaguchi D, Furutachi S, Kawai H, Hozumi K, Gotoh Y (2013) Dll1 maintains quiescence of adult neural stem cells and segregates asymmetrically during mitosis. *Nat. Commun.* (in press).