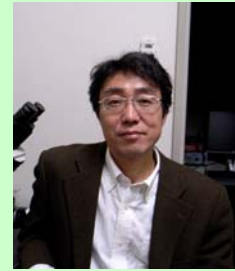


神経細胞多様化と神経回路組織化をもたらす分子メカニズムの解析に関する研究

Molecular mechanism for neuronal diversity and organization in the brain

八木 健 (YAGI TAKESHI)

大阪大学・大学院生命機能研究科・教授



研究の概要

脳は莫大な数の多様化した神経細胞からなる。本研究では脳の多様化分子群である CNR/プロトカドヘリン分子群に注目し、1) 個々の神経細胞の多様化をもたらす分子メカニズムの解析、2) 神経回路形成の分子メカニズムの解析より、神経細胞の多様性と神経回路形成を捉える分子メカニズムを明らかにする。

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：神経科学・神経科学一般

キーワード：カドヘリン、神経回路、遺伝子制御

1. 研究開始当初の背景

脳は多様化した神経細胞より構成され、組織化された神経回路網を形成し、秩序ある機能をもたらしている。この脳のシステムを理解してゆく為には、神経細胞の多様化と神経回路形成とを統合して捉える分子メカニズムを明らかにする必要がある。私たちはこれまでに、中枢神経系の神経細胞で発現する多様化分子群—CNR/プロトカドヘリン分子群—を発見した。興味深いことにこの CNR/プロトカドヘリン分子群は、細胞接着分子であり、ゲノム染色体で遺伝子クラスター構造を形成している。このゲノム構造は免疫グロブリンと類似したものであり、多様化したエクソンが縦列している可変領域と共通細胞内領域をコードする定常領域からなっている。また、CNR/プロトカドヘリンの可変領域エクソンは、個々の神経細胞で異なる組み合わせで発現している。これらの結果は、CNR/プロトカドヘリン分子群が中枢神経系における神経細胞の多様化と神経細胞相互作用に関与することを示唆している。

2. 研究の目的

本研究の目的は、多様化分子群である CNR/プロトカドヘリン分子群を用いて神経細胞の多様化に関わる遺伝子制御メカニズムと神経回路形成メカニズムを明らかにすることである。

3. 研究の方法

CNR/プロトカドヘリン遺伝子の発現制御に関わる DNA メチル化、遺伝子クラスター構造、シスエレメント、制御因子の解析を行うことにより、個々の神経細胞の多様化をもたらす分子メカニズムの解析を行う。

また、CNR/プロトカドヘリン遺伝子欠損マウスの作製により、神経回路形成に関わる分子機能の解析を行う。

4. これまでの成果

(1) CNR/プロトカドヘリン α のプロモーター領域の DNA メチル化による遺伝子発現制御の関与が明らかとなった (Kawaguchi et al 2008)。

(2) CNR/プロトカドヘリン α 遺伝子クラスター構造を変換させたマウスの作製を行った結果、個々の神経細胞における遺伝子発現制御に遺伝子クラスター構造が関与していることが明らかとなった (Noguchi et al 2009)。

α 遺伝子クラスターには、大きく2種類の発現パターン、確率的発現と恒常的発現が示唆されている。遺伝子クラスターの数を変換させたマウスにおいても、この2種類の発現パターンが維持されており、最下流にあるエクソンが必ず恒常的発現パターンとなった。

また、遺伝子クラスターの数を変化させても α メンバー全ての発現量は大きく変わらず、遺伝子クラスター構造の全体で発現量を調節し、各 α メンバーの発現を振り分けるメカニズムが示唆された。特に、確率的発現をしている α メンバーの遺伝子数を減少させた場合、残った α メンバーが必ず神経細胞で頻度高く発現した。これらの結果は、個々の神経細胞での異なる発現が、遺伝子クラスター数に依存した確率的な制御であることを示すものであった。

哺乳類脳において、個々の神経細胞での確率的遺伝子制御が示唆されたことは、神経回路をもたらす新たな遺伝的プログラムを示唆するものである。

(3) CNR/プロトカドヘリン α 定常領域欠損において、嗅神経軸索の嗅球糸球体への異所的な投射異常が認められた。これらの結果より、CNR/プロトカドヘリン α が正確な嗅神経回路形成において必須であることが明らかになった (Hasegawa et al 2008)。

(4) CNR/プロトカドヘリン α が縫線核にあるセロトニン神経で特に強く発現していることが明らかとなった。CNR/プロトカドヘリン α 定常領域欠損では、通常の成体マウスで広範にほぼ均一に分布しているセロトニン神経軸索の分布が、セロトニン神経の最終標的領域である大脳皮質、海馬、視床、線条体、嗅球など多くの脳領域で認められた。これらの結果より、CNR/プロトカドヘリン α がセロトニン神経の広範で均一な神経回路形成に必須であることが明らかとなった (Katori et al 2009)。

(5) CNR/プロトカドヘリン α 定常領域欠損マウスを用いて網羅的な行動異常の解析を行った結果、運動、感覚、不安などでは大きな行動異常が認められないものの、文脈依存的な恐怖条件付け学習と8本放射状迷路での空間ワーキングメモリーにおいて異常な亢進が認められた。(Fukuda et al 2008)。これらの結果は、CNR/プロトカドヘリン α が哺乳動物の学習・記憶における行動制御に関わることを示唆する結果である。

5. 今後の計画

これまでに、CNR/プロトカドヘリン遺伝子クラスターにおける発現調節シスエレメント、遺伝子発現制御因子、DNAメチル化制御因子の同定に成功し、これらの遺伝子欠損マウスも得られている。これらの解析により、神経細胞多様化の分子メカニズムを明らかにする。

また、 α 、 β 、 γ 各欠損マウス、コンディショナル欠損マウスが作製され、新

たな神経回路形成異常も明らかになっている。今後2年で、神経回路形成メカニズムの解析を進めて行く。

6. これまでの発表論文等

1. Noguchi Y, Hirabayashi T, Katori S, Kawamura Y, Sanbo M, Hirabayashi M, Kiyonari H, Nakao K, Uchimura A, Yagi T, Total expression and dual gene-regulatory mechanisms maintained in deletions and duplications of the Pcdha cluster. *The Journal of Biological Chemistry* 284, 32002-32014 (2009)

2. Katori S, Hamada S, Noguchi Y, Fukuda E, Yamamoto T, Yamamoto H, Hasegawa S, Yagi T, Protocadherin-alpha family is required for serotonergic projections to appropriately innervate target brain areas. *The Journal of Neuroscience* 29, 9137-9147 (2009)

3. Fukuda E, Hamada S, Hasegawa S, Katori S, Sanbo M, Miyakawa T, Yamamoto T, Yamamoto H, Hirabayashi T, Yagi T, Down-regulation of protocadherin-alpha A isoforms in mice changes contextual fear conditioning and spatial working memory. *The European Journal of Neuroscience* 28, 1362-1376 (2008)

4. Hasegawa S, Hamada S, Kumode Y, Esumi S, Katori S, Fukuda E, Uchiyama Y, Hirabayashi T, Mombaerts P, Yagi T, The protocadherin-alpha family is involved in axonal coalescence of olfactory sensory neurons into glomeruli of the olfactory bulb in mouse. *Molecular and Cellular Neurosciences* 38, 66-79 (2008)

5. Kawaguchi M, Toyama T, Kaneko R, Hirayama T, Kawamura Y, Yagi T, Relationship between DNA methylation states and transcription of individual isoforms encoded by the protocadherin-alpha gene cluster. *The Journal of Biological Chemistry* 283, 12064-12075 (2008)

6. Yagi T, Clustered protocadherin family. *Development, Growth & Differentiation* 50, S131-S140 (2008)

7. Morishita H, Yagi T, Protocadherin family: diversity, structure, and function. *Current Opinion in Cell Biology* 19, 584-592 (2007)

ホームページ等

<http://www.fbs.osaka-u.ac.jp/labs/yagi/index.htm>