

神経幹細胞アイデンティティの時空間制御による 神経細胞多様化の分子戦略

Strategy for producing a variety types of neurons by regulating
spatial and temporal identities of neural stem cells

星野 幹雄 (Hoshino, Mikio)

独立行政法人 国立精神・神経医療研究センター 病態生化学研究部 部長



研究の概要

多様な神経細胞を生み出す神経幹細胞には神経管での「場所（空間）」と「発生時期（時間）」によって規定される固有の形質があるが、その分子実体は未解明の部分が多い。本研究では、小脳をモデル系として、神経幹細胞の固有の形質、すなわち「神経幹細胞アイデンティティ」が発生途上の個体内でいかにして「時間的・空間的」に制御されているのかを、現象論からその分子機構まで明らかにし、神経細胞の多様性獲得の分子機構を個体レベルで理解する。

研 究 分 野：総合領域

科研費の分科・細目：神経科学 神経解剖学・神経病理学

キ ー ワ ー ド：神経発生・分化・異常

1. 研究開始当初の背景

中枢神経系には、数千種類もの多様な神経細胞が存在している。それぞれ形質の異なる神経細胞が個々の機能を行使することによって初めて高次な脳機能が発現されるわけであるから、「限られた遺伝情報からいかにして多種多様な神経細胞を分別して生み出すのか」という問いは、神経科学において非常に重要かつ根源的な問題である。

我々は、小脳皮質を完全に欠失しながらも成体まで成長する世界で唯一の突然変異マウス *cerebellless* の単離とその原因遺伝子 *Ptf1a* の同定・解析を通して、小脳原基では *Ptf1a* や *Math1* などの異なる種類の bHLH 型転写因子によって神経幹細胞の空間的な固有特性が規定されているのではないかと考えるに至った。また、発生の時期に応じて生み出される神経細胞種が異なるために、神経幹細胞には「時間」的な固有形質が存在すると予想された。

2. 研究の目的

本研究の目的は、小脳をモデル系として、神経幹細胞のもつ固有の形質すなわち「神経幹細胞アイデンティティ」が発生途上の個体内でいかにして「時間的・空間的」に制御されているのかを、現象論からその分子機構にまで深めて明らかにすることによって、神経細胞の多様性獲得の分子機構を個体レベルで理解しようとするものである。具体的には、神経幹細胞の空間および時間

アイデンティティを支配する分子の同定とその機能解析を行うことによって、上記目標の達成を目指す。

3. 研究の方法

i) *Ptf1a* および *Math1* を異所性に発現させるために、それぞれの遺伝子座にお互いの cDNA をノックインしたマウスを作成した。また、子宮内エレクトロポレーション法によって、それぞれの cDNA を異所性に小脳原基のサブドメインへと遺伝子導入し、そこからどのような種類の神経細胞が生み出されるのか調べた。

ii) 小脳発生の各ステージから神経幹細胞を取り出して、様々な発生段階の小脳原基へと移植し、それぞれの神経幹細胞がどのような神経細胞種へと分化しうるのか、その細胞自律性と非自立性について調べた。

iii) 時間アイデンティティ形成分子の探索のため、FACS ソーティングを用いて、各ステージの神経幹細胞を分離し、cDNA マイクロアレイによって、発生時期に特異的に発現する転写因子、エピゲノム関連分子をスクリーニングした。また、アフィニティクロマトグラフィー-LC-MS/MS によって、*Ptf1a* および *Atoh1* との相互作用分子を同定した。

4. これまでの成果

i) 相互ノックインマウスおよび子宮内エレクトロポレーションによる異所性強制発現実験により、*Ptf1a* および *Math1* が神経幹細胞の空間アイデンティティを規定するの

に必要な充分な分子であることを明らかにした。また、それが小脳原基のみならず、中央部後脳(蝸牛神経核)および尾側後脳(前小脳システム)でも成立する普遍性を持つことを示した。

ii)細胞移植実験により、神経幹細胞の分化しうる神経細胞の種類は、発生段階が進むと狭くなってくること(lineage restriction)を明らかにした。

iii) マイクロアレイ解析により、発生時期によって異なる発現をする神経幹細胞特異的な遺伝子群を同定した。また、Ptf1a、Math1結合分子をそれぞれ多数同定した。

5. 今後の計画

細胞移植実験によって明らかになった lineage restriction の分子の実体が、神経幹細胞アイデンティティの形成に関与していると考えられるので、上記 4-iii) で候補に上がった分子・遺伝子群をさらに解析し、研究を進めて行く。

6. これまでの発表論文等

1. Nishimura YV, Sekine K, Chihama K, Nakajima K, Hoshino M, Nabeshima Y, *Kawauchi T: Dissecting the factors involved in the locomotion mode of neuronal migration in the developing cerebral cortex. **J. Biol. Chem.** 285, 5878-5887, 2010 (*Correspondence)
2. Nishida K, Hoshino M, Kawaguchi Y, Murakami F: Ptf1a directly controls expression of immunoglobulin superfamily molecules Neph1 and Neph3 in the developing central nervous system. **J. Biol. Chem.** 285, 373-380, 2010
3. Fujiyama T, Yamada M, Terao M, Terashima T, Hioki H, Inoue YU, Inoue T, Masuyama N, Obata K, Yanagawa Y, Kawaguchi Y, Nabeshima Y, Hoshino M: Inhibitory and excitatory subtypes of cochlear nucleus neurons are defined by distinct bHLH transcription factors, Ptf1a and Atoh1. **Development** 136, 2049-2058, 2009
4. Causeret F, Terao M, Jacobs T, Nishimura YV, Yanagawa Y, Obata K, Hoshino M, Nikolic M: The p21-activated kinase is required for neuronal migration in the cerebral cortex. **Cerebral Cortex** 19, 861-875, 2009
5. Sone M, Uchida A, Komatsu A, Suzuki E, Ibuki I, Asada M, Shiwaku H, Tamura T, Hoshino M, Okazawa H, Nabeshima Y: Loss of yata, a novel gene regulating the subcellular localization of APPL, induces deterioration of neural tissues and lifespan shortening. **PLoS ONE** 4, e4466, 2009
6. Qin J, Xie Y, Wang B, Hoshino M, Wolff DW, Zhao J, Scofield MA, Dowd FJ, Lin M-F, Tu Y: Upregulation of PIP3-dependent Rac exchanger 1 (P-Rex1) promotes prostate cancer metastasis. **Oncogene** 28, 1853-1863, 2009
7. Ono K, Nakagawa T, Kojima K, Matsumoto M, Kawauchi T, Hoshino M, Ito J: Silencing p27 reverses post-mitotic state of supporting cells in neonatal mouse cochleae. **Mol Cell Neurosci** 42391-398, 2009
8. Fukuda A, Kawaguchi Y, Furuyama F, Kodama S, Horiguchi M, Kuhara T, Kawaguchi M, Terao M, Doi R, Wright CVE, Hoshino M, Chiba T, Uemoto S: Reduction of Ptf1a gene dosage causes pancreatic hypoplasia and diabetes mellitus in mice. **Diabetes** 57, 2415-2429, 2008
9. Yamada M, Terao M, Terashima T, Fujiyama T, Kawaguchi Y, Nabeshima Y, Hoshino M: Origin of climbing fiber neurons and their developmental dependence on Ptf1a. **J. Neurosci.** 27, 10924-10934, 2007
10. Takemoto-Kimura S, Ishihara-Ageta N, Nonaka M, Adachi-Morishima A, Mano T, Okamura M, Fujii H, Fuse T, Hoshino M, Suzuki S, Kojima M, Mishina M, Okuno H, Bito H: Regulation of dendritogenesis via a lipid raft-associated Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase CLICK-III/CaMKI γ . **Neuron** 54, 755-770, 2007
11. Shima Y, Kawaguchi SY, Kosaka K, Nakayama M, Hoshino M, Nabeshima Y, Hirano T, Uemura T: Opposing roles in neurite growth control by two 7-pass transmembrane cadherins. **Nature Neuroscience** 10, 963-969, 2007
12. Jacobs T, Causeret F, Nishimura YV, Terao M, Norman A, Hoshino M, Nikolic M: Localized activation of Pak1 controls neuronal polarity and morphology. **J. Neurosci.** 27, 8604-8615, 2007
13. Causeret F, Jacobs T, Terao M, Heath O, Hoshino M, Nikolic M: Neurabin-I is phosphorylated by Cdk5: implications for neuronal morphogenesis and cortical migration. **Molecular Biol. Cell** 18, 4327-4342, 2007
14. Zhao T, Nalbant P, Hoshino M, Dong X, Wu D, Bokoch GM: Signaling requirements for translocation of P-Rex1, a key Rac2 exchange factor involved in chemo-attractant-stimulated human neutrophil function. **J. Leukocyte Biol.** 81, 1127-1136, 2007
15. Takefuji M, Mori K, Morita Y, Arimura N, Nishimura T, Nakayama M, Hoshino M, Iwamatsu A, Murohara T, Kaibuchi K, Amano M: Rho-kinase modulates the function of STEF, a Rac GEF, through its phosphorylation. **Biochem. Biophys. Res. Comm.** 355, 788-794, 2007
16. Zaldua N, Gastineau M, Hoshino M, Lezoualc'h F, Zugaza JL: Epac signaling pathway involves STEF a guanine nucleotide exchange factor for Rac to regulate APP processing. **FEBS Letter** 581, 5814-5818, 2007

ホームページ

http://www.ncnp.go.jp/nin/guide/r_diag/index.html