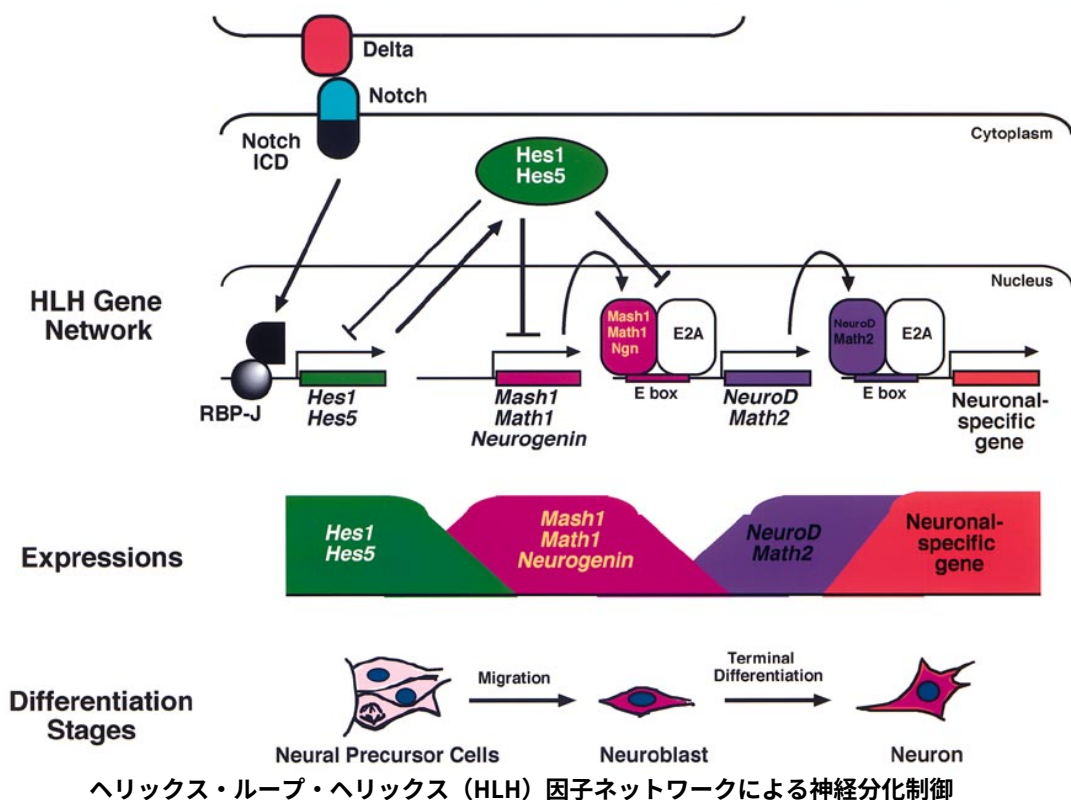


Regulation of Gene Expression in The Nervous System 神経系の遺伝子発現制御

プロジェクトリーダー 影 山 龍一郎

京都大学 ウイルス研究所 教授



1. 研究の目的

脳神経系は莫大な種類のニューロンおよびその機能をささえるグリア細胞からなるが、これらの細胞群はもともとほぼ均一な神経幹細胞が分化してきたものである。発生の初期には神経幹細胞はさかんに増殖するが、発生中～後期には神経幹細胞から多彩なニューロンやグリア細胞が分化する。生まれたニューロンは遠く離れた標的にむかって突起をのばす。いずれの過程も遺伝子発現が厳密に制御されており、遺伝子発現に異常がおこると、ニューロンやグリア細胞の数が乱れたり、神経突起の走行に異常がみられる。また、極端な場合には脳が欠損する。本研究では、このような神経発生過程における遺伝子発現を制御する分子機構、特に転写因子ネットワークの実体を明らかにすることを目的としている。神経発生過程を①神経幹細胞の増殖を維持する過程、②神経幹細胞からニューロンやグリア細胞への分化を決定する過程、③莫大な種類のニューロンを生み出す過程、および④正しい標的に神経突起をのばす過程に分類し、それぞれの過程の遺伝子発現を制御する分子機構を明らかにする。本研究成果は、試験管内で神経幹細胞を自由に増やしたり、ニューロンに分化させたり、あるいは成体内で神経突起の伸張方向を制御することを可能にし、脳疾患に対する再生医療への応用が期待できる。



神経細胞の培養実験

2. 研究の内容

神経発生過程を①神経幹細胞の増殖を維持する過程、②神経幹細胞からニューロンやグリア細胞への分化を決定する過程、③莫大な種類のニューロンを生み出す過程、④正しい標的に神経突起をのぼす過程に分けて、それぞれの遺伝子発現制御機構を明らかにする。

(1) 神経幹細胞の増殖を維持する過程

Hes1やHes5を欠損したマウスでは、神経幹細胞の維持が不完全で、正常よりも早くニューロンへの分化がおこる。そのため、神経管や眼胞の形成不全がおこり、無脳症や小眼症になる。一方、Hes1やHes5を持続発現させるとニューロンへの分化が抑制され、未分化状態が維持される。すなわち、Hes1やHes5は神経幹細胞の維持に非常に重要な役割を担っていることがわかる。両Hes因子の発現は、膜蛋白質Notchがリガンド刺激を受けて活性化されることによって誘導される。すなわち、Notch → Hes1/Hes5 ⊢ 神経分化決定 (→、促進; ⊢、抑制) という経路によって神経分化が制御されると考えられる。しかしながら、リガンド以外にも細胞内でこの経路を制御する分子の存在が示唆されており、Notch-Hes経路には未だ不明の点が多く残されている。本研究では、Notch-Hes経路で本当に神経幹細胞を維持できるのか、Notch-Hes経路を活性化あるいは不活性化する細胞内分子の実体は何か、Hesの標的遺伝子は何かについて解析を行い、神経幹細胞維持における遺伝子発現制御機構を解明する。

(2) 神経幹細胞からニューロンやグリア細胞への分化を決定する過程

神経幹細胞からニューロンへの分化決定にはbHLH因子が重要な役割を担う。特に、bHLH因子Mash1やMath3は脳・小脳・網膜のニューロンの分化に必須であることがわかってきた。本研究では、Mash1やMath3のノックアウトマウスの神経系を詳細に解析し、神経分化に果たす役割、特にMash1やMath3欠損によって影響を受ける遺伝子群を明らかにする。さらに、レトロウイルスを用いてこれらのbHLH遺伝子を神経幹細胞に導入し、どのような遺伝子を活性化し、どのようなニューロンに分化誘導できるのかを明らかにする。また、bHLH因子は他のグループの因子との組み合わせで異なった機能を発揮する可能性についても解析する。

(3) 莫大な種類のニューロンを生み出す過程

最近の解析から、比較的均一な神経幹細胞から莫大な種類のニューロンを生み出す過程においてもNotch-Hes経路が重要な機能を担うことが示唆されている。さらに、Hes以外にもHes関連bHLH因子Hesr1がNotchの下流で多様性を生み出す過程に重要な機能を担うことが示唆されている。これらのbHLH因子が具体的にどのような機序で多彩なニューロンを生み出すのかを明らかにしていく。

(4) 正しい標的に神経突起をのぼす過程

複雑な神経ネットワークは、発生期に神経軸索が標的細胞へ到達し、正しい相手とシナプス結合をつくることにより形成される。このとき、神経軸索を標的までガイドする様々な遺伝子が、時期・場所特異的に発現することが、正確な回路網形成に必要である。本研究では、神経軸索の正中交差現象に焦点を絞り、これを制御する遺伝子群を単離するとともに、その遺伝子発現調節機構について明らかにする。

3. 研究の体制等

期 間：1998年7月～2003年3月

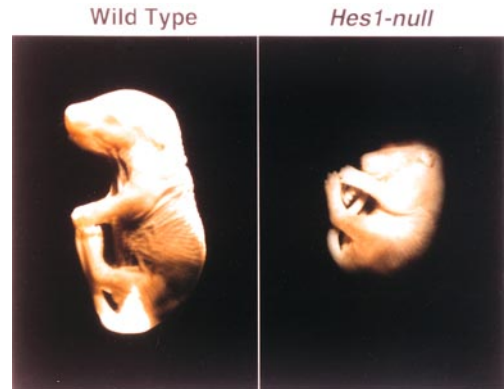
構 成：プロジェクトリーダー1名

コメンメンバー1名

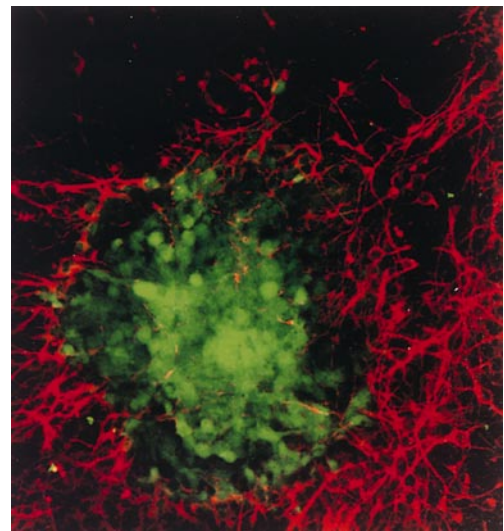
研究協力者18名ほか

実施場所：京都大学ウイルス研究所

筑波大学基礎医学系



野生型（左）およびHes1ノックアウトマウス（右）。Hes1ノックアウトマウスは無脳症になる。



レトロウイルスを用いてHes1を強制発現させた細胞は神経幹細胞で維持される（緑色）。それ以外の細胞はニューロンに分化している（赤色）。



ノックアウトマウスの組織切片を作製