

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料
〔令和4（2022）年度 中間評価用〕

令和4年3月31日現在

研究期間：2020年度～2024年度
課題番号：20H05688
研究課題名：脳皮質の構築機構の解明

研究代表者氏名（ローマ字）：仲嶋 一範 (NAKAJIMA Kazunori)
所属研究機関・部局・職：慶應義塾大学・医学部(信濃町)・教授
研究者番号：90280734

研究の概要：

本研究は、脳の神秘的な機能を支える皮質組織の三次元的な基本構造が、それを構成する細胞たちの相互作用を通して発生期に構築されていく機構を明らかにすることを目指す。すなわち、神経細胞が産生されて移動し、それぞれ適切に分化して脳表面近くで整然と層状に配列していくしくみ、グリア細胞であるアストロサイトが分化し皮質内に広く分布するしくみ、脳のシワが適切に形成されるしくみを明らかにしたい。

研究分野：神経発生

キーワード：脳皮質、発生分化、形態形成、神経細胞、グリア細胞

1. 研究開始当初の背景

我々の脳には皮質と呼ばれる特徴的な構造がある。皮質では、脳の表面に無数の神経細胞たちが層構造を作って並んでおり、それぞれの層には特徴的な形態や機能を持った異なる種類の神経細胞が分化して配列している。特に大脳皮質はヒトで大きく発達して様々な高次脳機能を営んでおり、まさにヒトをヒトたらしめている進化の最高傑作とも言われている。この皮質構造が発生過程でいかにして構築されるのかは、現代の神経科学及び発生生物学の最大の謎の一つである。特に大脳皮質についてはこれまでに多くの研究がなされており、脳室面近くにある神経幹細胞からの細胞産生や、誕生した神経細胞の複数の移動様式とその制御機構等に関しては知見が蓄積してきた。一方、移動神経細胞が脳表面近くで整然とした皮質構造を構築していく過程は十分解明されておらず、グリア細胞については組織全体に広がるしくみなど基本的なこともよく分かっていない。

2. 研究の目的

本研究では、主にマウスをモデルとして、脳皮質の三次元的な基本構造がそれを構成する細胞たちの相互作用を通して発生期に構築されていく機構を明らかにすることを目指す。まずは大脳皮質神経細胞が産生されて移動し、それぞれ特異的な機能を担う神経細胞へと適切に分化して、脳表面近くで整然と層状に配列していく（図1）しくみを明らかにすることを目指す（項目1）。また、脳において神経細胞より圧倒的に多く存在するグリア細胞のうち、特に脳機能に積極的に関与する主要な構成細胞であるにも関わらず発生過程の知見が乏しいアストロサイトについて、どこでどのように産生され、分化し、皮質内に広く分布していくのかを明らかにする（項目2）。さらに、皮質神経細胞の数を増やすためには脳表面にシワを作って脳皮質の表面積を増やすことが重要だが、この組織全体のグローバルな形態変化が発生過程でどのように制御されて生じるのかを明らかにすることを目指す。脳のシワ形成パターンに再現性が高く、基本的に横方向にしかシワができない小脳皮質をモデルとする（項目3）。

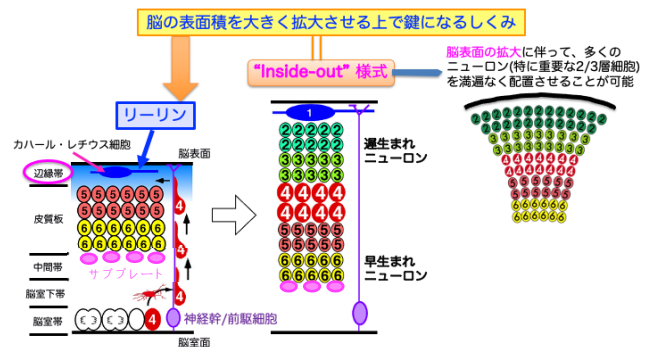


図1 “inside-out 様式”による大脳皮質の形成

3. 研究の方法

【項目1】大脳皮質は領域によって層構造が異なるため、まずは脳室面から移動を開始する細胞集団を高い時間分解能で可視化できる手法を確立し、皮質全体の三次元的な神経細胞移動プロフィールを明らかにする。図1のリーリンが欠損すると inside-out 様式の層形成が逆転してしまうことはよく知られているが、その理由は長年不明のため、リーリンの下流分子 Dab1 を時期特異的にノックアウト (KO) する等により調べる。また、神経細胞の分化運命が、神経幹細胞内在的な発生時計だけでなく細胞外シグナルによっても調整される可能性について検討する。

【項目2】アストロサイト前駆細胞が神経細胞とは全く異なる新規な移動様式を示すことを見出したので、それがスライス培養のアーチファクトではないことを確認するため、生きた胎仔脳の2光子顕微鏡を用いた *in vivo* イメージングによる観察に挑戦する。また、その動きを担う分子機構を明らかにするとともに、アストロサイトの分化を制御する機構を調べる。

【項目3】我々は小脳の生後のシワ形成期に *Dab1* を欠失させてリーリンシグナルを遮断するとシワ形成が不全になることを見出したので、その際にリーリンの標的になる細胞を、細胞種特異的に *Dab1* を KO することによって明らかにする。また、小脳のシワ形成の数理モデルを作成し、コンピューターシミュレーションを行って、実際の小脳組織で観察される現象と比較検討を行う。

4. これまでの成果

【項目1】大脳皮質脳室面から移動を開始した神経細胞は、皮質領域によって異なる様式で脳表面に向かうことがわかった。特に背外側の領域ではサブプレート (図1) の制御を受けてその下で一時的に貯留するのに対し、背内側ではその現象が認められないことがわかった。また、*Dab1* が KO された早生まれ神経細胞はサブプレートの下に密集して停滞し、遅生まれ神経細胞の移動を妨げてしまうことが、リーリン-*Dab1* 経路欠失によって層形成が逆転するしくみである可能性を見出した。また、リーリンの新規共受容体として *Nrp1* を見出した。さらに、細胞外シグナルが神経細胞の分化運命に影響することを明確に示す培養系を確立することに成功した。

【項目2】アストロサイト前駆細胞の新規移動様式は、生きた胎仔を用いた *in vivo* イメージングでも確認し、生理的な動態であることを示した。その動きを制御する分子機構を明らかにし、阻害するとアストロサイトの脳内分布等が異常になることを証明した。また、阻害するとアストロサイトの数を異常に増やす分子群を見出し、それらが構成するシグナル経路を明らかにしつつある。

【項目3】小脳がシワを形成していく時期のリーリン受容体は複数の種類の神経細胞に発現することを明らかにしたため、シワ形成において重要な細胞種を同定するため、細胞種特異的プロモーターで *Cre* を発現させるベクターを *Dab1 flox* マウスに導入して調べた。その結果、プルキンエ細胞が重要であることを見出した。また、小脳のシワにはフラクタル性 (自己相似性) がある (図2) ことに注目し、「膨らんだところがより膨らみやすい」という普遍的ルールの繰り返しで形成される可能性を想定した数理モデルを作成したところ、期待通りにシワが形成されることを確認した。

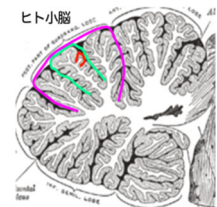


図2 小脳のシワ

5. 今後の計画

【項目1】リーリン-*Dab1* 経路が神経細胞間の接着 (凝集) を制御する分子機構を明らかにする。また、細胞外シグナルが神経細胞の分化運命に影響を与える経路を調べる。

【項目2】アストロサイト前駆細胞が部位によって異なる動態をとる理由を調べるとともに、今回見出した一連の分子群がアストロサイトの分化を促進するしくみを明らかにする。

【項目3】数理モデルでは顆粒細胞の動きが小脳のシワ形成の鍵を握ることが示唆されたが、シワ形成に重要なリーリン標的細胞はプルキンエ細胞と判明したため、両者をつなぐ経路を明らかにする。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

Dab1-deficient deep layer neurons prevent *Dab1*-deficient superficial layer neurons from entering the cortical plate. Satoshi Yoshinaga, Takao Honda, Ken-ichiro Kubo, and [Kazunori Nakajima](#). *Neurosci. Res.*, in press. 査読有り

Rhythmic activation of excitatory neurons in the mouse frontal cortex improves the prefrontal cortex-mediated cognitive function. Debabrata Hazra, Satoshi Yoshinaga, Keitaro Yoshida, Norio Takata, Kenji F. Tanaka, Ken-ichiro Kubo, and [Kazunori Nakajima](#). *Cereb. Cortex*, in press. 査読有り

Comprehensive characterization of migration profiles of murine cerebral cortical neurons during development using FlashTag labeling. Satoshi Yoshinaga, Minkyung Shin, Ayako Kitazawa, Kazuhiro Ishii, Masato Tanuma, Atsushi Kasai, Hitoshi Hashimoto, Ken-ichiro Kubo, and [Kazunori Nakajima](#). *iScience*, 24 (4), Article 102277 (2021). 査読有り

Cerebellar foliation via non-uniform cell accumulation caused by fiber-guided migration of granular cells. Hironori Takeda, Yoshitaka Kameo, Takahiro Yamaguchi, [Kazunori Nakajima](#), and Taiji Adachi. *J. Biomech. Sci. Eng.*, 16 (1), Paper No.20-00516 (2021). 査読有り

Reelin-*Nrp1* interaction regulates neocortical dendrite development in a context-specific manner. Takao Kohno, Keisuke Ishii, Yuki Hirota, Takao Honda, Makoto Makino, Takahiko Kawasaki, [Kazunori Nakajima](#), and Mitsuharu Hattori. *J. Neurosci.*, 40 (43), 8248-8261 (2020). 査読有り

7. ホームページ等

<https://www.nakajimalab.com>