

脳機能を生み出すゲノム情報発現の統合的理解を探る

●多羽田 哲也 ◆村上 智史

東京大学分子細胞生物学研究所

<研究の目的と進め方>

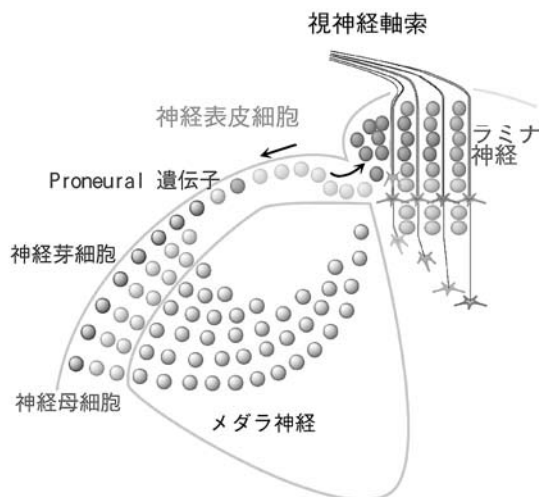
本研究は生物の脳機能発現を支えるメカニズムを明らかにすることを目標としている。そのメカニズムはゲノムに記述され、発生という形で具現化のプロセスをたどる。発生により形成された構造は機能発現を通じて個の生存の能力を規定し、進化というフィードバック機構により長い時間をかけて、改変された発生のメカニズムはゲノムに定着するはずである。このように発生メカニズムと機能は相関し、それは何らかの形でゲノムに記述されており、脳機能を理解するためにはこのゲノムの言語を統合的に理解する必要がある。いうまでもなく脳機能研究には膨大な蓄積があるが、ゲノム、発生および機能解析を統合的に扱うものは少ない。申請者の研究室では、ショウジョウバエをモデルに使う事で、統合的なアプローチを可能にして来た。本申請では次の2つのモデルシステムを中心に研究を推進する。

1. 嗅覚記憶形成の分子システム

ショウジョウバエの嗅覚情報の処理は私たち哺乳類と良く似ている。嗅覚受容体に補足された匂い物質の信号は触覚葉（哺乳類では嗅球）で中継され、さらにそこからキノコ体とよばれる神経単体に伝えられる。匂いと刺激を連合させる記憶の形成機構の研究によりこのキノコ体は、連合の場であると理解されている。記憶のメカニズムを理解するにはシンプルで最適な系の1つであるといえる。しかしながらその形成機構については未だ全体を制御する大まかなシグナルメカニズムも明らかにしていない状況である。本研究ではキノコ体の形成機構と同時に、それが支える記憶形成の分子機構の解明も行う。

2. 視覚中枢形成の分子システム

ショウジョウバエの視神経は視覚中枢のラミナ神経節およびメダラ神経節に投射する。両神経節は両者の中間に発生する共通の神経上皮細胞由来するにもかかわらず、その発生様式は大きく異なっている。ラミナ神経の発生は視神経の投射により制御され、これにより視神経の2次元の配列を脳への情報の投射で再現すること（トポグラフィックマップ）ができ、機能発現には重要



なプロセスである。このとき、視神経とラミナ神経が密接に相互作用をすることを見出した。この分子メカニズムを解明することによりトポグラフィックマップ形成の分子機序を明らかにする。一方、メダラ神経を生み出す神経幹細胞が神経表皮から規則正しく同調的に形成されることを見出した。これは神経幹細胞形成研究の新たな展開を可能にする優れた実験系であり、この過程に関わるシグナルの解析を行う。また、ラミナ神経節と共通の神経表皮由来することによりトポグラフィックマップ形成のための幹細胞形成の制御機構が示唆されており、そのメカニズムの解明を進める。

<研究開始時の研究計画>

1. 嗅覚記憶形成の分子システム

(1) キノコ体形成メカニズム

a. Wntシグナルの解析

b. 新たな挿入特異性を持つエンハンサートラップベクターを用いてキノコ体で発現する遺伝子群を同定した。その中からキノコ体の形成に寄与するものを選びその機能の解明を行う。

(2) 長期記憶メカニズム解析手法の確立

長期記憶を安定して解析するために半自動学習装置の開発を行う。

2. 視覚中枢形成の分子メカニズム

(1) ラミナ領域に投射してきた視神経軸索に5種のラミナ神経が会合するメカニズムを明らかにする。

(2) 共通の神経表皮からラミナ神経前駆細胞とメダラ神経幹細胞が形成されるメカニズムを明らかにする。

<研究期間の成果>

1. 嗅覚記憶形成の分子システム

(1) Wntシグナルの解析

DWnt5がキノコ体神経形成に必要なであることを明らかにしてきた。本年度はその下流の探索を行い、平面極性を制御する遺伝子群が機能している可能性を示唆する結果を得た。DWnt5との遺伝的相互作用を通して、この点を明らかにするための実験を進めている。

(2) キノコ体形成に必要な新規遺伝子の機能解析

キノコ体で発現する遺伝子のスクリーニングにより sickie 遺伝子を同定した。RNA干渉法により、本遺伝子はキノコ体の軸索伸長に必要であることがわかったので、新たに本遺伝子の欠失変異を作成し、表現型を確認した。この作用機序を詳しく調べるために抗体を作製中である。

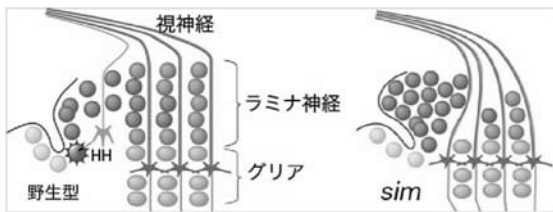
(3) 長期記憶メカニズム解析手法の確立

嗅覚記憶形成メカニズムを解析するために、匂いと電気ショックを連合させた記憶を半自動で学習させる装置を開発した。本装置は匂いを検出するアルコールセンサーを取り付けることで、匂い提示と電気ショックを細かく制御できる。電気ショックパルスと同期したパルス状に匂いを提示することで、従来の手法より効

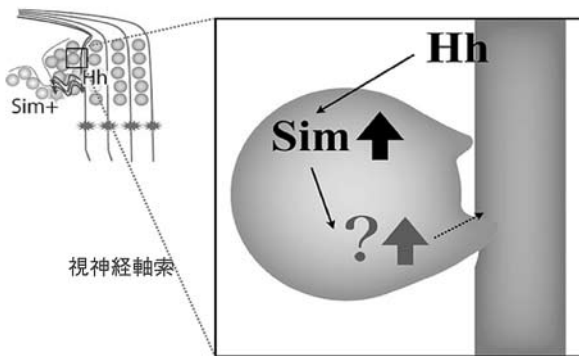
率良く匂い記憶を形成することを見いだした。また、この装置によって長期記憶が形成されることも確認した。

2. 視覚中枢形成の分子システム

(1) ラミナ神経節の形成



ラミナ神経は神経表皮からそのまま神経細胞に分化する。この一連の分化過程は視神経の投射により供給されるヘッジホッグにより誘導される。シナプス前神経がシナプス後神経の発生を制御していることになる。さらに分化誘導された5種のラミナ神経が、将来シナプスを形成することになる1セットの視神経軸索を包むように、ラミナカラムと呼ばれる構造を形成する。視神経は後部から1列ずつ順に分化するために、視神経もその順に脳に到達し、その場で、将来のパートナーであるラミナ神経の分化を誘導し、ラミナカラムを形成する。2次元に分布する視神経の配列を、2次元に展開する同数の脳のターゲット神経に正確に配線することより、このように逐次、その場にターゲットの分化を誘導するほうが効率よい回路形成を可能にしていると思われる。ラミナカラムの形成には Sim 遺伝子が必要である。今年度はマイクロアレイ法を用いて Sim のターゲット遺伝子を探索した。その結果、免疫グロブリンスーパーファミリーに属する遺伝子を同定し、それらの変異では Sim 変異と同様にラミナカラムが形成されないことを確認した。またこのファミリーに属する分子が視神経軸索にも発現していることを見出し、その変異でも同様な表現型が観察されることから、ファミリー間での相互作用が想定される。現在はさらに詳細な解析を続けている。

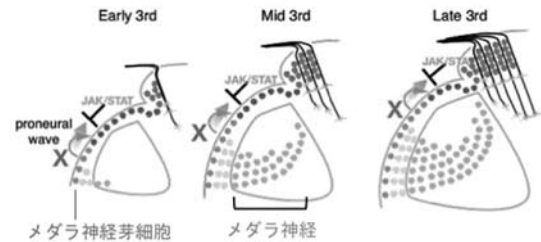


(2) メダラ神経節の形成

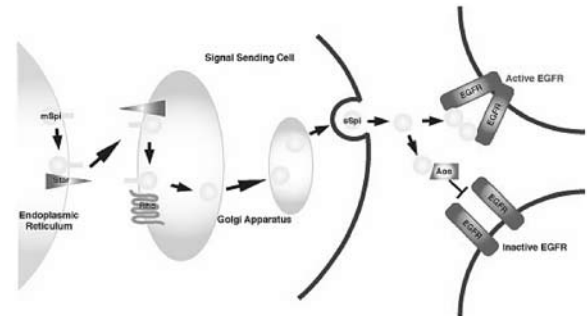
メダラ神経節の形成は神経表皮細胞が増殖することに始まる。次に、最外側に位置する神経表皮細胞が Proneural 遺伝子群に属する遺伝子を発現し、その細胞は直ぐに神経芽細胞となる。これを時系列で追ってみると、最内側から始まる Proneural 遺伝子の発現は1細胞ずつ外側へ向かって神経表皮細胞列を上っていく。それは神経芽細胞を形成する波が規則正しく一方向に動いていく波のようあり、proneural wave と名付けた。さらに JAK/STAT 信号系が proneural wave の進行を負に制御していることを見出した。本年度は Proneural wave の分子実体が EGF シグナルであることを明らかにした。

EGF シグナルの直接のターゲットである転写因子 Pointed は

proneural wave で高いレベルで発現しており、そこで EGF シグナルが活性化していることがわかった。また、構成的な EGF 受容体の活性型の発現では proneural wave の進行が促進される。



EGF 受容体の機能喪失変異では、神経芽細胞の分化は阻害され、神経表皮のまま留まっている。Rhomboid (不活性型の EGF リガンドを切断して活性型のフォームにするゴルジ局在の因子) は proneural wave で発現しており、EGF シグナルにより発現誘導される。リガンドと考えられる Spitz は視覚中枢全体で発現している。以上より、EGF シグナルが活性化されると proneural 遺伝子が活性化され、神経芽細胞に分化する。同時に Rhomboid が発現し、Spitz を、分泌される活性型に変える。それにより次の神経表皮細胞が Spitz を受け取り、proneural wave が進行していくと結論づけた。



<国内外での成果の位置づけ>

メダラ神経節の形成機構解析の過程で、神経上皮細胞から神経芽細胞が規則正しく形成されるメカニズムを見出した。これはいかなる中枢神経系にも知られていなかったものであり、神経幹細胞形成を詳細に解析することが可能になり EGF シグナルの役割を明らかにすることができたことは大きな進展であった。

Mushroom body 形成に関しては、重要な構造であるにも関わらず、これの大まかな構造を規定する基本的なシグナルさえ同定されていない。今後、この研究を進展させていくなかで、明らかにしていきたい。記憶形成のメカニズムの解明は大きな課題であるが、ショウジョウバエにおいても神経回路の解明が進むなか、本質的な理解がえられる条件は整ってきている。私たちの準備が整い、この分野の理解に貢献したい。

<達成できなかったこと、予想外の困難、その理由>

ラミナ、メダラ神経節の形成機構の解明には多くの遺伝子の相互作用を解析する必要があり、今年度中に結果をまとめて公表するにいたらなかったことは残念である。

<今後の課題、展望>

嗅覚系の形成機構および嗅覚記憶形成メカニズムの解明を中心課題として研究を進展させていく。

<研究期間の全成果公表リスト>

なし