

令和 2 年 5 月 25 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H02504

研究課題名(和文) 神経回路の組織化と維持・管理を担う分子細胞基盤

研究課題名(英文) Molecular and cellular basis for dendritic development and maintenance

研究代表者

榎本 和生 (Emoto, Kazuo)

東京大学・大学院理学系研究科(理学部)・教授

研究者番号：80300953

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 33,300,000円

研究成果の概要(和文)：ショウジョウバエ幼虫の感覚ニューロンは、表皮全体を覆うように受容領域を形成する。我々は近年、感覚ニューロン樹状突起は、腹側の特定表皮(上皮)細胞(sternitesと呼ばれる)からの分泌される位置シグナルWNT5を感知することにより、受容領域の境界を決定していることを発見した。さらに、背側の特定表皮(上皮)細胞からも何らかの位置シグナルが提示されることを見出し、そのシグナルを樹状突起上のGPCR様分子(GPCR1と仮称)が受容することを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

自閉症患者の脳では、特定ニューロンの受容領域の形成異常が頻りに報告されていることから、脳内でニューロンが正確な空間に固有の受容領域を形成することは、脳神経回路形成において必須事項であると考えられるが、発生発達期の脳において、ニューロンが3D受容領域を形成する仕組みは未だほとんど理解されていない。本研究は、機能的な脳神経回路形成メカニズムを理解する上で重要な情報を提供するのみならず、自閉症などの脳神経疾患の発症メカニズムの理解に貢献することが期待される。

研究成果の概要(英文)：Drosophila sensory neurons cover body wall in a complete but non-redundant fashion. This tiling structure of dendritic field organization is previously reported in retinal ganglion cells in mammalian retina more than 20 years ago, but underlying molecular and cellular mechanisms remain elusive. The tiling structure in Drosophila sensory neurons is determined in part by repulsive interactions between dendritic branches, and we have identified several signaling molecules that mediate the repulsive interactions. In addition, we currently found that Wnt5 from particular epithelial cells, Sternites, provides a spatial cue that defines the ventral boundary of the dendritic fields. Thus, the dendritic fields of Drosophila sensory neurons are defined by two distinct mechanisms, repulsive interactions between dendritic branches and spatial cues from guidance cells.

研究分野：神経発生学

キーワード：ショウジョウバエ 樹状突起 受容領域 タイリング 感覚ニューロン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

我々の脳では、軸索と樹状突起という機能・構造的に異なる2種類の神経突起を介して、1000億個ものニューロンがネットワークを形成している。樹状突起は、他のニューロンや感覚受容器からの情報入力を担っており、その空間配置と大きさは入力シグナルの質と量を規定する主要因子となる。実際に生体脳では、同じ機能を担うニューロン群は、ほぼ同じ大きさの樹状突起を持ち、しかも特定の脳内空間に配置・配線されることにより機能ユニットを形成する。このような同種ニューロンの空間的な組織化は、遺伝情報に加えて、細胞外からの情報に規定されると考えられている。例えば、ほ乳類の視覚情報を担う神経節細胞 (retina ganglion cells: RGCs) は、網膜上に樹状突起を展開するが、同種ニューロンの樹状突起は決して重なり合うこと無くタイル状に配置され網膜全体を覆う(図1)。このRGCsのタイル構造は、隣接する樹状突起間の相互作用を介して組織化される可能性が提唱されたが、適切な解析手法が確立されていなかったため、組織化を担う分子実体と制御原理は全く不明だった。

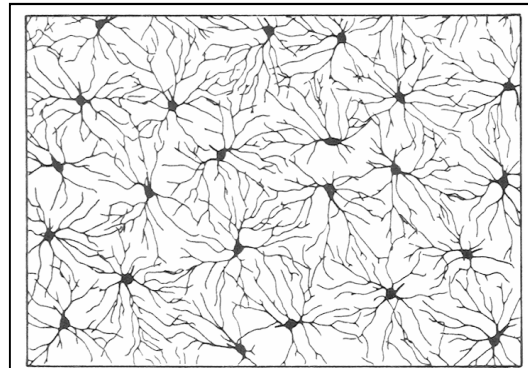


図1 網膜神経節細胞における樹状突起のタイル構造 内網膜層に樹状突起を展開する同種RGCニューロン群を示す。各々の樹状突起はほとんど重なり合わず、かつ隙間無く網膜上をカバーしている。

2. 研究の目的

本研究は『脳を構成する神経回路は如何にして空間的に組織化されて、さらに出来上がった回路が如何にして生涯に渡り維持・管理されるのか?』という神経発生学の根源的な問題に対して、独自に確立した方法論を駆使して制御メカニズムの包括的解明を目指すものである。①空間的組織化については、申請者が発見した『神経突起間の反発作用』と『神経突起と周辺細胞との相互作用』という異なる2つのメカニズムに着目し、それぞれの分子基盤を追求するとともに、2者の協調メカニズムを明らかにする。②維持・管理に関しては、神経突起変性の抑制因子として申請者が同定した Wts キナーゼに着目し、その生理的リン酸化基質を同定し作動原理を解明する。さらに、新たに発見したショウジョウバエ成虫の老化に伴う神経突起変性を解析モデルとして、神経回路の維持・管理を担うエピジェネティック制御メカニズムを解明する。

3. 研究の方法

本研究は、脳神経ネットワークの空間的組織化と維持・管理を担う分子細胞基盤とその作動原理の解明を目指す。①空間的組織化については、申請者が発見した『神経突起間の反発作用』と『神経突起と周辺細胞との相互作用』という異なる2つのメカニズムに着目し、それぞれの分子基盤を追求するとともに、2者の協調メカニズムを明らかにする。②維持・管理に関しては、神経突起変性の抑制因子として同定した Wts キナーゼに着目し、その生理的リン酸化基質を同定し作動原理を解明する。さらに、申請者が確立したショウジョウバエ老化に伴う神経突起変性モデルを用いて、神経突起構造を管理するエピジェネティック制御メカニズムを解明することにより、維持・管理を担う分子ネットワークの包括的理解を目指す。

4. 研究成果

(1) ショウジョウバエ幼虫の感覚ニューロンは、表皮全体を覆うように受容領域を形成する。我々は近年、感覚ニューロン樹状突起は、腹側の特定表皮(上皮)細胞(sternites と呼ばれる)からの分泌される位置シグナル WNT5 を感知することにより、受容領域の境界を決定していることを発見した。さらに、背側の特定表皮(上皮)細胞からも何らかの位置シグナルが提示されることを見出し、そのシグナルを樹状突起上の GPCR 様分子(GPCR1 と仮称)が受容することを見出した。

(2) ショウジョウバエ感覚ニューロンの樹状突起は、変態において一旦除去されて、その後、変態後期において再生し、新たな受容領域を形成する。樹状突起を選択的に除去するメカニズムにミトコンドリアが必要であることがわかった。この時、ミトコンドリアが樹状突起に局在することが重要であり、ミトコンドリアが細胞体から樹状突起に輸送されない *miton* 変異体では刈り込みが阻害された。したがって、ミトコンドリアから何らかの刈り込み誘導因子が発生している可能性が考えられた。

(3) 神経発生における樹状突起再生メカニズムを明らかにするために、マイクロRNA(miRNAs)に着目してスクリーニングを行った。ショウジョウバエゲノム上にコードされる約80個のmiRNAsについて特異的ノックアウトシステムを使った網羅的スクリーニングを実行し、その結果、miR-87の欠損系統では、顕著な樹状突起の再生不全が観察された(Kitani et al. *PLoS Genetics* in press)。miR-87は通常低い発現レベルに抑えられているが、樹状突起を再生させる時期に発現上

昇すること、miR-87 を高発現させると樹状突起の再生時期が早まることから、miR-87 は樹状突起の再伸長開始を誘導する因子である可能性が考えられた。さらに、miR-87 のターゲット因子を検索し、転写抑制因子である Tramtrack69 (Ttk69) を同定した。ショウジョウバエ幼虫の感覚ニューロンの樹状突起をレーザー等で除去すると再生するが、miR-87 欠損変異体では、再生がほぼ完全にストップした。したがって、発生期における樹状突起再生と、障害後の樹状突起再生では同様のメカニズムを使っている可能性が初めて示唆された。

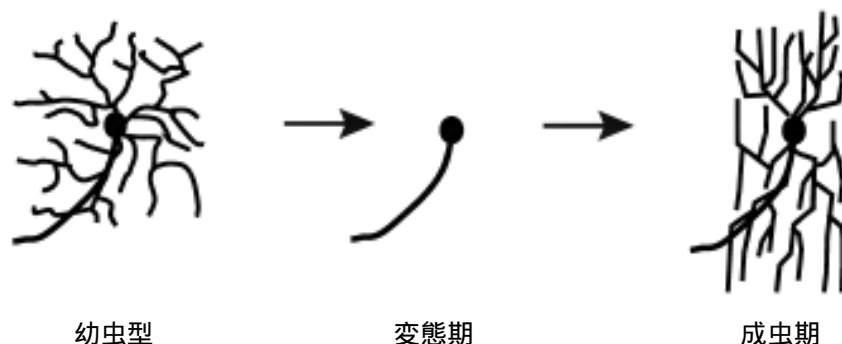
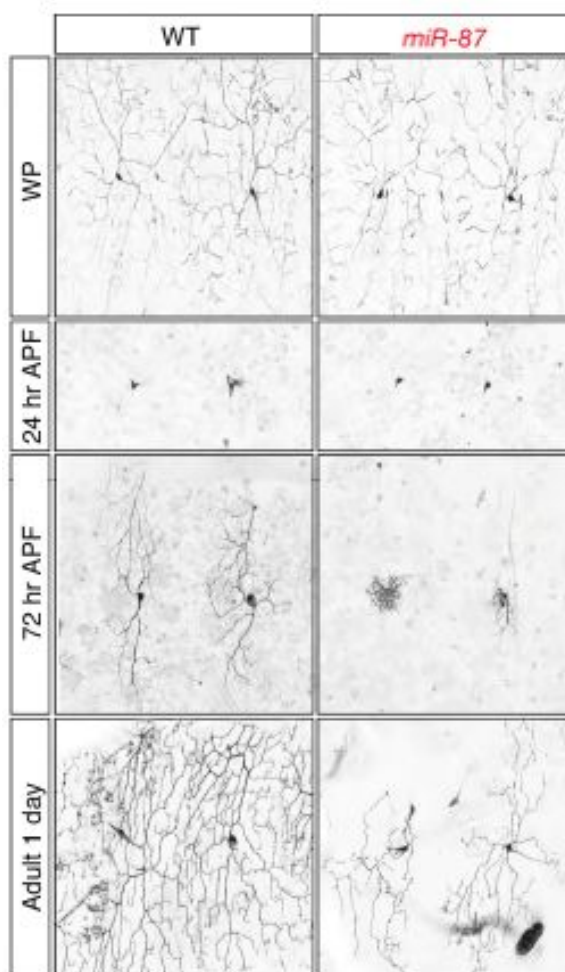


図2 ショウジョウバエ感覚ニューロン樹状突起の再生

<参考文献>

1. 中浜涼太・増岡宏哉・長谷川恵理・富樫和也・榎本和生：「神経回路の除去と再生の分子細胞基盤」生体の科学「特集：脳神経回路のダイナミクスから探る脳発達・疾患・老化」70: 14-18 (2019).
2. 辻真人・中溝真未・榎本和生：「内的状態による行動選択の制御」生体の科学「特集：脳神経回路のダイナミクスから探る脳発達・疾患・老化」70: 48-52 (2019).
3. Kitatani Y, Hasegawa E, Tezuka A, Yagagi S, Togashi K, Tsuji M, Kondo S, Parrish JZ & Emoto K: *Drosophila miR-87* promotes dendrite regeneration by targeting the transcriptional repressor Tramtrack69. *PLoS Genetics* in press.
4. Togashi K, Takeuchi S, Nakahama R, Tsuji M, Koizumi H & Emoto K: Adeno associated virus-mediated single cell labeling of mitral cells in the mouse olfactory bulb: insights into the developmental dynamics of dendrite remodeling. *Frontiers Cell Neurosci* in press.



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Utashiro N, Williams CR, Parrish JZ, Emoto K.	4. 巻 8
2. 論文標題 Prior activity of olfactory receptor neurons is required for proper sensory processing and behavior in <i>Drosophila</i> larvae.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 8580
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-018-26825-3.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 1.Yoshino J, Morikawa R, Hasegawa E, Emoto K	4. 巻 27
2. 論文標題 Neural circuitry that evokes escape behavior in response to nociceptive stimuli in <i>Drosophila</i> larvae.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Curr Biol	6. 最初と最後の頁 2499-2504
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi: 10.1016/j.cub.2017.06.068.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Koizumi H, Fujioka H, Togashi K, Thompson J, Yate J, Gleeson J, Emoto K	4. 巻 77
2. 論文標題 DCLK1 phosphorylates the microtubule-associate protein MAP7D1 to promote axonal elongation in cortical neurons.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Dev Neurobiol	6. 最初と最後の頁 493-510
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi: 10.1002/dneu.22428	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 4件/うち国際学会 4件）

1. 発表者名 Kazuo Emoto
2. 発表標題 Calcium control of neural development and remodeling
3. 学会等名 CSHA Neuroscience Meeting（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kazuo Emoto
2. 発表標題 Calcium signaling in spatio-temporal regulation of neuronal development and remodeling
3. 学会等名 Annual Meeting of European Developmental Biology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Kazuo Emoto
2. 発表標題 Calcium signaling in spatio-temporal regulation of neuronal development and remodeling
3. 学会等名 The 48th NIPS international Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Kazuo Emoto
2. 発表標題 Neuronal basis for emotion in invertebrates
3. 学会等名 Invited seminar series in Department of Biology at University of British Columbia (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	富樫 和也 (Togashi Kazuya) (40450613)	東京大学・大学院理学系研究科(理学部)・助教 (12601)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	木瀬 孔明 (Kise Yoshiaki) (70769611)	東京大学・大学院理学系研究科（理学部）・特任助教 (12601)	
研究 分担者	古泉 博之 (Koizumi Hiroyuki) (10334335)	東京大学・大学院理学系研究科（理学部）・助教 (12601)	