

平成 21 年 6 月 16 日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19700320
 研究課題名（和文） 大脳皮質の神経細胞移動におけるネトリンとネトリン受容体の機能解析
 研究課題名（英文） Analyses of Netrin/UNC5D receptor function on neuronal migration in the developing cerebral cortex

研究代表者
 佐々木 慎二 (SASAKI SHINJI)
 慶應義塾大学・医学部・助教
 研究者番号：10365439

研究成果の概要：大脳皮質は、6層の神経細胞層で作られており各層は同様な機能と形態的な特徴を持つ細胞で構成されており、最も基本となる機能単位として神経回路を作る基礎になっています。この大脳皮質の構造は、胎児期に神経細胞が移動することで作られます。申請者は、神経移動の様式の1つである多極性移動が、分泌蛋白質であるネトリンと多極性移動中の細胞の細胞膜上にある UNC5D 受容体によってコントロールされることを見出しました。本研究では、多極性神経細胞の移動を制御する細胞外シグナル分子の実体として、初めてネトリンと UNC5D の関与を明らかにしました。本研究の成果は、多極性神経細胞の移動を制御する分子メカニズムの解明にとどまらず、今後大脳皮質の形成の仕組みを解き明かす上で大きなヒントを与えることが期待されます。

交付額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|---------|-----------|
| 2007年度 | 1,600,000 | 0 | 1,600,000 |
| 2008年度 | 1,000,000 | 300,000 | 1,300,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 2,600,000 | 300,000 | 2,900,000 |

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

大脳皮質は、6層の神経細胞層から構成されており、各層は同様な機能と形態的な特徴

を持つ細胞で構成されており、最も基本となる機能単位として、大脳皮質の神経回路を作る基礎になっている。神経細胞層は、発生期に

脳室に接する脳室帯で最終細胞分裂を終えた神経細胞が、脳表面の方向に向かって移動することで形成されが、移動の過程で殆ど全ての神経細胞が、脳室下帯でいったん留まり、多くの突起をダイナミックに伸展、退縮させながら移動する「多極性移動」様式で移動することが報告された (Tabata 2003)。この多極性移動中の神経細胞は、脳梁方向に軸索様の突起を伸ばし始めることから、「多極性神経細胞」は軸索を伸長するために、いったん脳室下帯に留まっていることが示唆された。しかし、どのような分子の働きによって多極性神経細胞が脳室下帯に留まるのか、またどのような分子が移動を再開させるために必要であるのか不明である。申請者は、脳室下帯に特異的に発現する転写産物 *Svet1* の染色体上での構造解析を起点に、*Unc5d* が多極性神経細胞に特異的に発現することを見出した。UNC5 は、軸索ガイド分子であるネトリンの反発性シグナルを伝える受容体である。また、*Unc5* のパラログ遺伝子である *Unc5c* 遺伝子欠損マウスでは、小脳の顆粒細胞とプルキンエ細胞の移動に異常が認められる (Ackerman 1997)。これらの研究背景から、申請者は多極性神経細胞の細胞表面に発現する UNC5D が、ネトリンのシグナルを受けて、脳室下帯にいったん留まり、その後移動を再開する移動段階を制御するとの作業仮説を立て、この仮説を検証することにした。

2. 研究の目的

本申請では、多極性神経細胞における UNC5D の役割を解明することを目的に、脳室下帯にいったん留まり、その後移動を再開する移動段階への UNC5D の関与について検討を行った。

3. 研究の方法

(1) 発生期大脳皮質での UNC5D と Netrin の局在について、それぞれの蛋白質に対する特異抗体を用いた免疫組織学によって検討した。

(2) 多極性移動細胞における UNC5D の機能を検討するため、UNC5D の発現抑制と過剰発現実験を行った。本実験では、子宮内遺伝子穿孔法によって *Unc5d* に対する siRNA 発現プラスミドと *Unc5d* 発現プラスミドをそれぞれ胎児脳の多極性移動細胞に導入後、スライス培養を行い、細胞の移動様式を共焦点レーザー顕微鏡で経時的に観察した。

4. 研究成果

(1) 多極性細胞が中間帯を超えて皮質板に侵入する過程で、多極性細胞は UNC5D によってネトリンを受容することを見出した。

(2) 多極性細胞は、Netrin を受容すると多極性突起の退縮が引き起こされることを見出した。

(3) 多極性細胞において UNC5D による Netrin の受容を阻害すると、多極性細胞は多極性突起を維持したまま中間帯に留まり、皮質板への侵入が阻害されることを見出した。

(4) 以上の結果から、多極性細胞は UNC5D で細胞外の Netrin を受容すると多極性突起が退縮して双極性の形態に変化して、皮質板への侵入が可能になると考えられる。これらのことから、多極性細胞は大脳皮質内での位置情報を細胞外因子から読み取り、皮質板内への侵入タイミングを決定していると考えられる。

本研究は、多極性神経細胞の移動を制御する細胞外シグナル分子の実体として、初めてネトリンと UNC5D の関与を明らかにした。本研究の成果は、多極性神経細胞の移動を制御する分子メカニズムの解明にとどまらず、今後大脳新皮質の形成における多極性神経細胞

胞の役割を解明する上で大きなヒントを与え、また解析するための分子ツールを提供することが期待される。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計2件)

Sasaki S, Tabata H, Tachikawa K and Nakajima K. The cortical subventricular zone specific molecule *Svet1* is part of the nuclear RNA coded by the putative Netrin receptor gene *Unc5d* and is expressed in multipolar migrating cells. *Molecular and Cellular Neuroscience*. 2008 Aug;38(4):474-483、査読有り

Tachikawa K, Sasaki S, Maeda T, Nakajima K. Identification of molecules preferentially expressed beneath the marginal zone in the developing cerebral cortex. *Neurosci Res*. 2008 Feb;60(2):135-146、査読有り

[学会発表](計7件)

Joseph W. Yip, Shinji Sasaki, and Kazunori Nakajima "Netrin effects on migration of sympathetic preganglionic neurons in the spinal cord" Society for Neuroscience, 38th Annual Meeting, 2008.11.15-19, Washington, D.C., U.S.A.

Shinji Sasaki, Hidenori Tabata, Kashiko Tachikawa, and Kazunori Nakajima "Molecular mechanisms that regulate the behavior of multipolar migration neurons in the developing cerebral neocortex" 第31回日本神経科学大会、東京、2008年7月9-11日

Koji Oishi, Kashiko Tachikawa, Shinji Sasaki, and Kazunori Nakajima "Regulation of cortical laminar formation by cadherin family proteins" 第31回日本神経科学大会、東京、2008年7月9-11日

Kashiko Tachikawa, Shinji Sasaki, Takuya Maeda, and Kazunori Nakajima "Identification and analyses of molecules that are induced beneath the marginal zone in the developing cerebral cortex" 第31回日本神経科学大会、東京、2008年7月9-11日

刀川夏詩子、佐々木慎二、前田卓哉、仲嶋一範 "発生期大脳皮質の皮質板上層部で優位に発現する分子の検索と機能解析" 第30回日本神経科学大会・第50回日本神経化学学会大会・第17回日本神経回路学会大会合同大会 (Neuro2007)、横浜、2007年9月10-12日

大石康二、刀川夏詩子、佐々木慎二、仲嶋一範 "細胞間接着による大脳皮質層形成機構の解析" 第30回日本神経科学大会・第50回日本神経化学学会大会・第17回日本神経回路学会大会合同大会 (Neuro2007)、横浜、2007年9月10-12日

佐々木慎二、田畑秀典、刀川夏詩子、平田幸男、仲嶋一範 "発生期大脳新皮質における多極性移動神経細胞の挙動を制御する分子の検索と解析" 第30回日本神経科学大会・第50回日本神経化学学会大会・第17回日本神経回路学会大会合同大会 (Neuro2007)、横浜、2007年9月10-12日

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況（計0件）

取得状況（計0件）

〔その他〕

6．研究組織

(1)研究代表者

佐々木 慎二 (SASAKI SHINJI)
慶應義塾大学・医学部・助教
研究者番号：10365439

(2)研究分担者

(3)連携研究者