

令和 5 年 6 月 2 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19K06920

研究課題名（和文）大脳発生における力の役割：神経前駆細胞の動態・運命とその分子機構の解明

研究課題名（英文）The roles of mechanical force in cerebral development: focus on the dynamics and fate of neural progenitor cells and their molecular mechanism

研究代表者

岡本 麻友美 (Okamoto, Mayumi)

名古屋大学・医学系研究科・助教

研究者番号：30551965

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：発生過程の大脳組織は、神経前駆細胞が非常に密に、そして、ダイナミックに存在している場所であり、そこには様々な物理的な力が存在していることが予想される。本研究では、大脳組織に存在する物理的な力が、神経前駆細胞の動態をどのように制御しているのか、その実態と分子メカニズムの解明を目的として研究を行った。その結果、力の感知と応答に関わる機械受容チャンネルが大脳発生過程の神経前駆細胞において、細胞産生パターンを制御していることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、「力」というこれまでの神経発生分野の研究においては極めて異なる視点から脳発生を研究し、発生過程の大脳において新たな制御機構が存在していることを明らかにした。本研究成果は、重要な基礎的知見を得ることのみならず、大脳皮質形成過程の病態の解明や治療への応用が期待できる。

研究成果の概要（英文）：The developing cerebral wall is composed of highly dense and dynamic neural progenitor cells, and various types of mechanical force are expected to be present there. In this study, we investigated how the mechanical forces present in the cerebral tissue regulate the dynamics of neural progenitor cells, to understand the molecular mechanism of cellular dynamics. We found that the mechanosensor channel involved in force sensing and response regulates cell production patterns in neural progenitor cells during cerebral development.

研究分野：神経発生

キーワード：大脳発生 力 神経前駆細胞 動態

## 1. 研究開始当初の背景

発生過程の脳では、神経前駆細胞から決められた時期に決められた数と種類の細胞が生み出されることで、機能的な脳組織を形成する。神経前駆細胞において、産生する細胞の数や種類がどのように制御されているのかという問いは、神経発生分野において大きなテーマの一つであるが、そのメカニズムはまだ完全に理解されていない。我々は以前の研究より、神経前駆細胞の核移動を障害すると、過剰に核が混雑し、混み合った状態にある神経前駆細胞が脳表面から離脱して、異所的な分裂を引き起こすことを明らかにし<sup>1)</sup>、神経前駆細胞の周囲の混雑による力学的負荷が、神経前駆細胞の動態を制御している可能性を示した。近年、生体における力の役割とそのメカニズムに着目した、メカノバイオロジーという分野が発展してきており、これまで遺伝子中心に語られてきた発生現象も、組織中に存在する物理的な「力」によって制御されているということがわかってきた。しかし、これまでに、脳発生過程の神経前駆細胞の周囲の環境に存在する「力」が、神経前駆細胞の動態にどのように寄与しているのか、そしてさらに、細胞自身が「力」をどのように感知し、どのように応答するのかという具体的なメカニズムは明らかにされていない。

## 2. 研究の目的

本研究では、物理的な「力」が神経前駆細胞の動態や運命をどのように制御しているのか、その実態と分子メカニズムの解明を目的とした。

## 3. 研究の方法

(1)-1 機械受容チャネルの脳発生における機能を調べるために、機械受容チャネルに対する CRISPR/Cas9 コンストラクトを子宮内エレクトロポレーション法により発生期マウス脳に導入することによる機械受容チャネルのノックアウトを行い、その表現型を免疫組織化学を用いて解析した。

(1)-2 機械受容チャネルを神経前駆細胞特異的にノックアウトするために、コンディショナルノックアウトマウスを作成した。得られた胎仔の脳を固定し、その表現型を免疫組織化学、および、EdU インジェクションによる pulse-chase 解析を行った。また、機械受容チャネルコンディショナルノックアウト、および、野生型マウス脳組織の細胞をそれぞれ単離し、RNA-sequence を用いた比較トランスクリプトーム解析を行った。

(2) 組織の細胞密度を増加させ、神経前駆細胞の核の過密化という力学的負荷を与えた際に、その下流で発現が変化する分子群を同定するために、TAG-1<sup>1)</sup> に対する shRNA を発生期マウス脳に子宮内エレクトロポレーション法を用いて導入し、その組織から TAG-1 のノックダウンが行われた神経前駆細胞のみを単離し、RNA-sequence を用いた比較トランスクリプトーム解析を行った。

## 4. 研究成果

本研究課題の推進によって、下記(1)-(2)が明らかとなった。

(1)-1 脳発生過程における機械受容チャネルの機能を調べるために、機械受容チャネルに対する CRISPR/Cas9 コンストラクトを用いて機械受容チャネルのノックアウトを行ったところ、機械受容チャネルを欠損することにより、脳室面から離れた場所において細胞分裂が増加していることが明らかとなった(図1)。この結果から、神経前駆細胞の中でも脳室面から離れた場所で細胞分裂を行う、中間型前駆細胞(Intermediate progenitor cells)が増加していることが示唆された。

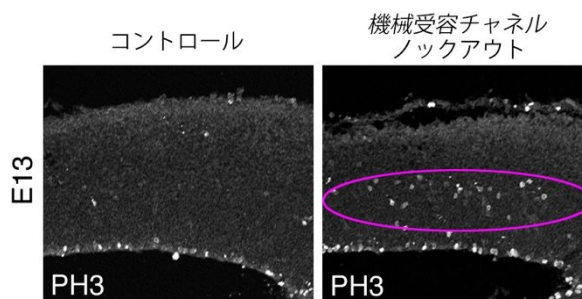


図1 機械受容チャネルに対する CRISPR/Cas9 を用いたノックアウトの表現型

(1)-2 (1)-1 の結果を受けて、より詳細に機械受容チャネルの脳発生過程における機能を調べるために、神経前駆細胞特異的機械受容チャネルコンディショナルノックアウトマウスを作成した。このマウスでは、(1)の結果と同様に、脳室面から離れた場所において細胞分裂が増加していることを観察した。そこで、神経前駆細胞が産出する娘細胞の細胞タイプを追跡するために、pulse-chase 解析を行ったところ、機械受容チャネルを欠損した神経前駆細胞では、未分化な神経前駆細胞 (radial glia cells, apical progenitor cells) を産出する割合が減少し、中間型前駆細胞を産出する割合が増加していることを見出した。

さらに、機械受容チャネルコンディショナルノックアウトと野生型の脳組織から単離した細胞を用いた比較トランスクリプトーム解析から、機械受容チャネルの下流で働くシグナル経路を同定した。今後はこのシグナル経路の因子群についての機能解析を進める予定である。

(2) 神経前駆細胞の核の過密化という力学的負荷により発現誘導される分子群についての情報を得るために、核の過密状態を引き起こした脳組織 (*TAG-1* ノックダウン) と正常な脳組織から単離した神経前駆細胞を用いて、比較トランスクリプトーム解析を行った。得られた遺伝子発現情報を用いて、PCA 解析を行うと、2 群間で遺伝子発現パターンが大きく異なることが明らかとなり、発現変動遺伝子リストを得た。今後、これらの遺伝子群に特徴的なシグナルカスケードの同定や、候補分子に対する機能解析を進めたい。

#### < 引用文献 >

1 ) Okamoto et al., *Nat. Neurosci.*, 2013, 16, 1556-1566

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Mayumi Okamoto, Keiko Nonomura, Tsukasa Shimamura, Takaki Miyata
2. 発表標題 Mechanosensor channel PIEZ01 regulates cerebral development
3. 学会等名 Neuro2022（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Mayumi Okamoto, Keiko Nonomura, Tsukasa Shimamura, Takaki Miyata
2. 発表標題 PIEZ01-mediated mechanosensing regulates the fate of neural progenitor cells
3. 学会等名 MBSJ2022
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 岡本麻友美	4. 発行年 2022年
2. 出版社 株式会社アドスリー	5. 総ページ数 282
3. 書名 大脳組織形成における神経前駆細胞の形態の役割と核移動の意義 ブレインサイエンスレビュー2022	

〔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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------