

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 15 日現在

機関番号：32612

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2009～2011

課題番号：21650078

研究課題名（和文） 抑制性神経細胞の大脳皮質内への分配の制御機構

研究課題名（英文）

Mechanisms of the distribution of inhibitory interneurons in the cerebral cortex

研究代表者

仲嶋 一範 (NAKAJIMA KAZUNORI)

慶應義塾大学・医学部・教授

研究者番号：90280734

研究成果の概要（和文）：高度な知能・精神活動などを担う大脳新皮質を、哺乳類が進化において獲得した仕組みの一端を示した。すなわち、他の神経細胞の活動を抑制する働きをする「抑制性神経細胞」と呼ばれる細胞の移動能が、哺乳類で新皮質内に進入できるように変化したことが鍵を握ることを発見した。大脳新皮質の抑制性神経細胞は、統合失調症などの精神疾患と関連する可能性が近年注目されており、ヒトが高度な脳機能を獲得した仕組みの解明につながる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：In this study, we have analyzed the evolutionary changes of the migratory ability of inhibitory interneurons in the cerebral cortex. As the result, we suggest that an evolutionary change in the migratory ability of inhibitory interneurons that originate outside the cerebral neocortex was involved in the establishment of the neocortex in mammals by supplying inhibitory components to the network.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,100,000	0	1,100,000
2010年度	1,000,000	0	1,000,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
総計	3,100,000	300,000	3,400,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：神経科学・神経科学一般

キーワード：大脳皮質、発生・分化、神経科学、脳・神経、細胞移動

1. 研究開始当初の背景

大脳皮質が正常に機能するためには、興奮性神経細胞と抑制性神経細胞がバランスよく配置されて回路網を形成することが必須であり、統合失調症等においてはこのバランスが崩れている可能性が近年注目されている。興奮性神経細胞の皮質内配置機構に関しては多くの知見がある一方、抑制性神経細胞が皮質内になぜ「適確に」分配されるかに関しては、世界的に殆ど知見がなかった。先行研究により、ほぼ全ての大脳皮質抑制性神経細胞は終

脳腹側部にある大脳基底核原基で生まれた後、脳表面に対し平行に移動して大脳皮質へと進入することが知られており、その機構については我々も貢献してきた (Yozu et al, 2005; Nakajima, 2007 他) が、一旦大脳皮質へと進入したこれらの細胞がどのような移動経路を経て最終位置にたどり着くのかは明らかになっていなかった。近年我々は独自開発した手法を用いて、マウス大脳皮質内を移動する抑制性神経細胞には複数の移動経路があること (Tanaka et al., *Development*, 2003, 2006)

を明らかにし、大脳皮質内での正常な分配を実現するためには脳室下帯から皮質板方向への移動方向の転換(「離陸」)が重要であるという示唆を得ていた。

2. 研究の目的

本研究では、マウスとは異なる動物種由来の抑制性神経細胞の前駆細胞をマウス大脳に移植し、マウス由来の抑制性神経細胞と挙動を比較することにより、抑制性神経細胞が哺乳類大脳新皮質内で適確に分配される現象がいかにして実現されるのかを理解することを目指す。「進化によって新たに獲得された細胞機能」を、「進化において保存された細胞機能」から区別して抽出することにより、「進化した高等動物」だけを解析していたのでは見えてこない、しかもその「進化した高等動物」では重要な役割を担う「新たな性質」を見つけ出すことを目的とした。

3. 研究の方法

(1) ニワトリ胎仔の大脳基底核原基(大脳皮質抑制性神経細胞の起源)の細胞を特異的に赤色蛍光タンパク質(mCherry)でラベルし、マウス胎仔の大脳基底核原基に子宮内で移植してその後の挙動を調べてみた。

(2) マーモセットまたはカメ胎仔の大脳基底核原基(大脳皮質抑制性神経細胞の起源)の細胞を特異的に赤色蛍光タンパク質(mCherry)でラベルし、GFPを発現させたマウス基底核原基細胞と混ぜて、子宮内マウス胎仔の大脳基底核原基に移植した。そして、それらのその後の大脳皮質内における分布を形態学的に定量して統計解析した。

(3) ヒトの抑制性神経細胞の解析を試みるための準備として、ヒトiPS細胞から抑制性神経細胞を誘導することを試みた。すなわち、既に樹立されているヒトiPS細胞を接着培養法によってまず終脳の神経幹細胞へと分化させ、その後これまでのマウスでの解析より大脳新皮質抑制性神経細胞の分化誘導に必要であることが示されているSonic hedgehogを培地中に添加することで終脳の神経幹細胞を大脳新皮質抑制性神経細胞の幹細胞へと誘導することを試みた。

4. 研究成果

(1) ニワトリ細胞はマウス大脳内において高い移動能を有し、大脳皮質内に問題なく進入できた。しかも、マウス大脳皮質内においてニワトリ細胞はマウス細胞同様に脳室下帯を局限して移動していたことから、この経路選択についてはニワトリ細胞もマウス細胞と同様の内在的機構を有しているものと推

測された。一方、脳室下帯から皮質板に向けての方向転換(「離陸」)については、マウス細胞にのみ見られ、ニワトリ細胞では殆ど認められなかった。そこで次に、より定量的かつ厳密な解析を行うため、mCherryを発現させたニワトリの基底核原基細胞と、GFPを発現させたマウス基底核原基細胞を混ぜて、同時に別の子宮内マウス胎仔の基底核原基に移植した。そして、それらのその後の大脳皮質内における分布を定量して統計解析した。その結果、脳室下帯付近にとどまっているニワトリ細胞はマウス細胞のそれらよりも有意に多く、逆に皮質板内に分布しているニワトリ細胞はマウス細胞よりも有意に少ないことが確かめられた。また、大脳新皮質より内側に位置する海馬においてはニワトリ細胞の方がマウス細胞よりも有意に多く分布していたため、上記ニワトリ細胞の移動異常は単にニワトリ細胞の移動能がマウス細胞よりも低いだけでなく、マウス細胞に備わっている「新皮質内における、脳室下帯から皮質板に向けた移動方向の変換(『離陸』)機構」がニワトリ細胞で欠損しているためであることが示唆された。

(2) 上記のように、マウス大脳基底核原基に移植された移植細胞は、由来する動物種がマウスであろうがニワトリであろうが、いずれもマウス大脳内において高い移動能を有し、大脳皮質内に問題なく進入できた。しかも、マウス大脳皮質内において、ニワトリ細胞もマウス細胞と同様に脳室下帯を局限して移動していた。そこで、さらに解析対象を広げて、カメ(スッポン)及びマーモセットの大脳基底核原基の細胞を用いて同様に子宮内マウス胎仔大脳基底核原基への移植実験を行った。その結果、移植細胞に由来する細胞がマウス大脳内において脳室下帯を通過して移動するという経路選択については、調べたすべての種において共通して観察された。すなわち、それらの種に共通の内在的機構が存在しているものと考えられた。一方、大脳新皮質内において、脳室下帯から皮質板に向けて方向転換(「離陸」)する現象については、マウス細胞とマーモセット細胞にのみ見られ、カメ細胞についてはニワトリ細胞と同様に殆ど認められなかった。さらに、ニワトリの基底核原基細胞のマウス基底核原基への移植後の挙動について、抑制性神経細胞のサブpopulationによる違いや、神経細胞としての誕生時期の違いによって結果に差がないか検討したが、明らかな差は認められなかった。そこで、ニワトリ細胞を直接マウス胎仔大脳新皮質の皮質板に脳表面側か

ら移植したところ、少なくとも数週間にわたって生存し、見事に分化成熟することを見いだした。以上の結果から、大脳新皮質の脳室下帯から皮質板への移動神経細胞の「離陸」機構については、哺乳類に共通かつ特有の機構が存在している可能性が示唆された。

(3) 次に、さらに同様の解析をヒトの抑制性神経細胞についても行うことを目指し、そのための準備として、ヒト iPS 細胞から抑制性神経細胞を誘導することを試みた。その結果、まずはほぼ全ての iPS 細胞を終脳の幹細胞特異的なマーカーを発現する細胞へと分化誘導することに成功した。さらにこれらが大脳新皮質抑制性神経細胞の幹細胞へと誘導するために、培養液中に Sonic hedgehog を添加してみたところ、少数ではあるが大脳新皮質抑制性神経細胞の幹細胞特異的なマーカーを発現する細胞を誘導することができた。また、それらの細胞を長期間培養したところ、抑制性神経細胞のマーカーを発現する細胞を分化誘導することができた。今後、これらの細胞を、これまでのニワトリ、カメ、マーマセット胎仔由来の抑制性神経細胞と同様に赤色蛍光タンパク質である mCherry でラベルし、比較のため GFP を発現する胎生 13.5 日目マウス胎仔大脳基底核原基細胞と混合して野生型の子宮内胎生 13.5 日目マウス大脳基底核原基へと移植することにより、それらの挙動を比較することができると期待される。

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 18 件)

Migratory pathways of GABAergic interneurons when they enter the neocortex. Daisuke H. Tanaka and Kazunori Nakajima. *Eur. J. Neurosci.*, in press.

査読あり

GABAergic interneuron migration and the evolution of the neocortex. Daisuke H. Tanaka and Kazunori Nakajima. *Dev. Growth Differ.*, 54 (3), 366-372 (2012).

査読あり

Changes in cortical interneuron migration contribute to the evolution of the neocortex. Daisuke H. Tanaka, Ryo Oiwa, Erika Sasaki, and Kazunori Nakajima. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 108 (19), 8015-8020 (2011).

査読あり

CXCR4 is required for proper regional and laminar distribution of cortical somatostatin-, calretinin- and neuropeptide Y-expressing GABAergic interneurons. Daisuke H. Tanaka, Sakae Mikami, Takashi Nagasawa, Jun-ichi Miyazaki, Kazunori Nakajima, and Fujio Murakami. *Cereb. Cortex*, 20 (12), 2810-2817 (2010).

査読あり

[学会発表](計 28 件)

仲嶋一範 "移動神経細胞による大脳皮質の層形成"、シンポジウム“大脳皮質の形成機構”、第 117 回日本解剖学会総会・全国学術集会、山梨大学甲府キャンパス、甲府(山梨県) 2012 年 3 月 26-28 日

仲嶋一範 “大脳新皮質形成の分子・細胞機構”、第 27 回 Wako ワークショップ「記憶の形成と障害～基礎から臨床まで」、コクヨホール、東京、2011 年 11 月 22 日

仲嶋一範 “子宮内胎児脳電気穿孔法を用いた大脳皮質形成機構の解析 (Analyses of cerebral cortical development using *in utero* electroporation)”、ランチオンセミナー:「エレクトロポレーション法が開拓する新しい脳機能研究 (Frontiers of brain research developed by electroporation)」、第 34 回日本神経科学大会、パシフィコ横浜、横浜(神奈川県) 2011 年 9 月 14-17 日

Kazunori Nakajima “Layer formation in the developing cerebral cortex”, Karolinska Institute, Stockholm, Sweden, 2011 年 2 月 24 日

仲嶋一範 “大脳皮質の層構造形成機構”、愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所共同セミナー、愛知県心身障害者コロニー、春日井(愛知県) 2010 年 12 月 20 日

Kazunori Nakajima “Neuronal migration and layer formation”, Brain Science Training Program, RIKEN Brain Science Institute, Wako (Saitama ken), 2010 年 10 月 4 日

田中-原田大介、大岩亮、佐々木えりか、仲嶋一範 “外套 GABA 作動性介在神経細胞の哺乳類大脳新皮質への適応における進化発生基盤 (Evolutionary developmental basis in the adaptation of pallial GABAergic interneurons to mammalian layered neocortex)”、第 33

回日本神経科学大会・第53回日本神経化学会大会・第20回日本神経回路学会大会合同大会 (Neuro2010) 神戸コンベンションセンター、神戸(兵庫県)、2010年9月2-4日

仲嶋一範 “大脳皮質形成のメカニズム”、東京慈恵会医科大学 DNA 医学研究所 15 周年夏期セミナー特別講演、東京慈恵会医科大学、東京、2010年7月10日

Daisuke Tanaka Harada, Ryo Oiwa, Erika Sasaki, and Kazunori Nakajima (田中原田大介、大岩亮、佐々木えりか、仲嶋一範) “Critical evolutionary step for pallial GABAergic interneurons to adapt to mammalian layered neocortex (外套 GABA 作動性介在神経細胞が哺乳類大脳新皮質に適應するための決定的進化過程)”、第43回日本発生生物学会大会 (Asia-Pacific Developmental Biology Network 共催)、京都、2010年6月20-23日

仲嶋一範 “大脳皮質の形づくりのしくみ”、東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科特別講義、東京、2009年12月15日

仲嶋一範 “大脳皮質の移動神経細胞のダイナミクス” 頭部形成研究会、修善寺、2009年11月16-18日

仲嶋一範 “子宮内胎児脳電気穿孔法の確立とそれを用いた神経細胞移動の解析”、シンポジウム：“遺伝子抑制と遺伝子導入法の展開から見えるもの～新技術から医薬応用に向けての新しい研究展開～”、第82回日本生化学会大会、神戸、2009年10月21-24日

Daisuke H. Tanaka and Kazunori Nakajima “Migratory pathways of avian MGE-derived GABAergic interneurons in the mammalian neocortex: implications for the evolutionary adaptation in GABAergic interneuron migration”, International Symposium “Construction and Reconstruction of the Brain”, Awaji, 2009年10月8-10日

田中大介、仲嶋一範 “鳥類の外套 GABA 作動性介在神経細胞の哺乳類大脳新皮質でのふるまい：外套 GABA 作動性神経細胞における大脳新皮質への進化的適應についての暗示 (Behavior of avian pallial GABAergic interneurons in the mammalian neocortex: implications for the evolutionary adaptation to the neocortex in pallial GABAergic interneurons)”、第32回日本神経科学大会、名古屋、2009年9月16-18日

〔図書〕(計1件)

Cell polarity and initiation of migration (Chapter 24). Katsutoshi Sekine, Hidenori Tabata, and Kazunori Nakajima. *Developmental Neuroscience: A Comprehensive Reference*, Elsevier, in press.

〔産業財産権〕

出願状況 (計0件)

取得状況 (計0件)

〔その他〕

<報道関連>

2011年4月26日 日刊工業新聞朝刊19面にて紹介

2011年4月29日 マイコミジャーナル(毎日コミュニケーションズ)にて紹介 (<http://journal.mycom.co.jp/news/2011/04/29/007/index.html?route=blog>)

2011年5月13日 週刊科学新聞3面(科学技術総合欄)にて紹介

Newton 2011年8月号(6月25日発売)にて紹介記事掲載(北京版、台湾版、韓国版にも掲載予定)

<アウトリーチ活動>

田中大介、ウィークエンド・カフェ・デ・サイエンス (WEcafe) vo. 18 <国立科学博物館認定サイエンスコミュニケーターと武田計測先端知財団によるサイエンスカフェ>、東京、2011年7月30日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

仲嶋 一範 (NAKAJIMA KAZUNORI)

慶應義塾大学・医学部・教授

研究者番号：90280734

(2) 研究分担者

無し

(3) 連携研究者

田中 大介 (TANAKA H. DAISUKE)

慶應義塾大学・医学部・助教

研究者番号：90456921