

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：若手研究(B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22700370

研究課題名（和文） 大脳新皮質の系統発生メカニズムの解明

研究課題名（英文） Phylogenetic mechanisms of the neocortex

研究代表者

田中 大介（TANAKA DAISUKE）

慶應義塾大学・医学部・助教

研究者番号：90456921

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解明した。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、ヒトが高度な知能を獲得した仕組みの解明につながるものと期待される。

研究成果の概要（英文）：

An evolutionary change in the migratory ability of inhibitory interneurons that originate outside the neocortex was involved in the establishment of the neocortex 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
2010年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：脳神経科学・神経解剖学・神経病理学

キーワード：大脳新皮質・進化・神経細胞移動

1. 研究開始当初の背景

神経細胞の移動は、脳の形成過程において極めて重要なイベントである。発生期、多くの神経細胞は最終分裂する部位と最終的に回路網を形成し機能する部位が異なるために、最終分裂した後、目的地に向けて移動する必要がある。神経細胞の移動に関わる遺伝子に変異が生じたヒトでは、脳の形態や細胞構築が乱れ、認知機能や運動機能に重篤な障害が生じる(Gleeson et al., 2000)。

哺乳類大脳新皮質の神経細胞は二種類に大別する事ができる。一つは興奮性のグルタミン酸

作動性神経細胞、もう一つは抑制性の - アミノ酪酸(GABA)作動性神経細胞(GABA細胞)である。多くのGABA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、終脳背側部に位置する大脳新皮質へと進入する(Anderson et al., *Science*, 1997)。しかし研究開始当初、大雑把な移動経路は明らかになっていなかったものの、一旦大脳新皮質へと進入した細胞がどのような経路をどのような様式で移動し、最終目的地である皮質板にたどり着くのかは明らかになっていなかった。我々は独自開発したGABA細胞特異的

可視化・タイムラプス観察法を用いて、大脳新皮質内を移動するGABA細胞には少なくとも5つの移動経路がある事を明らかにした(Tanaka et al., 2003)。さらに生体内胎仔の大脳新皮質の一部を脂溶性蛍光色素で標識する方法により、少なくとも辺縁帯の経路では、2-3mmという長距離にわたって大規模な移動が起こっている事を *in vivo*において明らかにした(Tanaka et al., 2006)。さらにその後、より長時間の観察ができるように改良したタイムラプス観察法と緻密な定量解析法を組み合わせる事で、辺縁帯の一部の移動細胞は「さまよい運動」と命名した、これまでに報告のない全く新しい様式で移動している事を明らかにした(Tanaka et al., 2009)。以上のように我々はこれまでに移動細胞の経路や移動様式を同定するための様々な観察・解析方法を開発・改良し、マウス大脳新皮質内におけるGABA細胞の新規移動経路・様式を同定し続けてきた。

しかしこれまでのところ、マウス(哺乳類)大脳新皮質内におけるGABA細胞のこれら移動経路が、系統発生的にいつ、どのように確立されたのかは明らかになっていない。近年、大脳基底核原基から終脳背側部へのGABA細胞の移動は、げっ歯類のみならず霊長類や爬虫類、鳥類といった他種においても観察されることが明らかとなった(Cobos et al., 2001; Metin et al., 2007)。このことより、大脳基底核原基から終脳背側部への移動メカニズムは、少なくとも哺乳類・爬虫類・鳥類の共通祖先で既に確立していたと考えられる。また終脳背側部内での移動経路に関しては、哺乳類では前述の通り、多くの細胞がまず脳室に近い領域(脳室下帯)を通過して、より背側の領域へと移動した後、脳表面に向けて移動方向を変更する移動過程を経る一方、爬虫類や鳥類では終脳背側部内のほぼ全領域に分散した状態で全体的に背側へと移動していることが明らかとなった(Cobos et al., 2001; Metin et al., 2007)。これらのことより、哺乳類大脳新皮質で観察される移動過程は哺乳類の系統で初めて実現されたと考えられる。しかし、神経細胞の移動経路は「移動環境」と「移動細胞自身の性質」により決まることを踏まえると、終脳背側部の細胞構築は、哺乳類(6層構造)と爬虫類(3層構造)、鳥類(核構造)でそれぞれ著しく異なるため、哺乳類特有の移動経路の出現が、哺乳類特有の「移動環境」に起因しているのか、もしくは「移動するGABA細胞自身の性質」に起因しているのかは明らかでない。哺乳類特有のGABA細胞移動経路の系統発生メカニズムを理解する上で、上記可能性の区別は重要である。

2. 研究の目的

本研究では哺乳類特有の大脳新皮質GABA細胞の移動経路の出現が、哺乳類特有の「移動環境」に起因しているのか、もしくは「移動するGABA細胞自身の性質」に起因しているのかを明らかにする。具体的には(1)ニワトリ(鳥類)由来のGABA細胞をマウス終脳腹側部に異種間移植し、マウス大脳新皮質内での移動経路を同定し、マウス由来の細胞の経路と比較する。また平行して(2)スッポン(爬虫類)由来のGABA細胞に関してもニワトリ細胞と同様の異種間移植・比較解析を行う。さらに異種間移植のポジコンとして同じ哺乳類ではあるが明らかに異種の(3)ラットおよびコモンマーモセット(霊長類)由来のGABA細胞を同様に異種間移植し、その移動経路を比較解析する。

3. 研究の方法

(1) ニワトリ(鳥類)由来のGABA細胞をマウス終脳腹側部に異種間移植し、マウス大脳新皮質内での移動経路を同定し、マウス由来の細胞の経路と比較する

ニワトリ由来のGABA細胞のマウス終脳内での挙動を調べるため、胎生6.5日目ニワトリの大脳基底核原基(終脳背側GABA細胞の起源)の細胞を電気穿孔法を用いて赤色蛍光タンパク質(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ともに野生型の子宮内胎生13.5日目マウス胎仔大脳基底核原基へと移植する。その後胎生15.5日目、18.5日目、生後2日目、7日目に被移植個体を固定し、大脳新皮質切片を作製してmCherryおよびGFPに対する蛍光免疫染色をした後、共焦点レーザー顕微鏡を用いて分布や形態を解析する。これまでの予備実験では、多くのmCherry細胞は、GFP細胞と同様にマウス大脳新皮質へと脳室下帯を通過して進入する一方、そこから脳表面方向への方向転換ができず、脳室下帯に溜まってしまう傾向があることが分かってきている。また、移植した細胞がGABA細胞であることを確かめるために、抗GABA染色を行う。予備実験ではマウス大脳新皮質に分布するmCherry細胞の55%が抗GABA陽性であった。

(2) スッポン(爬虫類)由来のGABA細胞を用いて同様の解析を行う

スッポン由来のGABA細胞のマウス終脳内での挙動を調べるため、胎生16日目スッポン大脳基底核原基の細胞をmCherryでラベルし、ニワトリの場合と同様にマウス胎仔へと移植し、免疫組織化学的に解析する。スッポンはニワトリと異なり変温動物でありスッポン胎仔自体はマウス体温に近い38°Cでは

全く発生しないことが知られていたため、予備実験としてスッポン胎仔終脳の細胞を新生仔マウス大脳皮質へと移植してみたところ、少なくとも4日間は全く問題なく生存していることを確認した。移植後の期間をより延長した場合に生存率がどうなるかはまだ調べていない。今後、ニワトリ細胞の場合と同様にマウス胎仔への移植・解析を試みる。

(3)ラットおよびコモンマーモセット(霊長類)由来のGABA細胞を用いて同様の解析を行う

前述の通り本研究では異種間移植を行うため、ニワトリ及びスッポンの細胞の移動経路においてマウスのそれとの差異が見いだされた場合、それが単に免疫反応など異種間移植で想定される一般的な異常な反応によるものであるかどうかを検証する必要がある。そこで異種間移植自体のポジコンとして同じ哺乳類ではあるが明らかに異種のラットおよびマーモセット由来のGABA細胞が、マウス大脳新皮質内でマウス細胞と同様の挙動を示すことを確かめる。ニワトリやスッポンの場合と同様に、それぞれ胎生15日目または90日目のラットまたはマーモセット大脳基底核原基の細胞をmCherryでラベルし、マウス胎仔へと移植し、免疫組織化学的に解析する。マーモセット胎仔は実験動物中央研究所から供与してもらおう予定であり、申請者自身でこれまでに既に3匹程使用している。

4. 研究成果

(1, 2) マウスの脳に移植したニワトリおよびスッポンのGABA細胞は、マウス細胞と同様にマウス大脳新皮質へと脳室下帯を通過して進入する一方、そこから脳表面方向への方向転換して「大脳新皮質」に進入することができず、脳室下帯に溜まってしまふことが分かった。ニワトリ細胞やスッポン細胞は、「大脳新皮質」に入れなかったからといって決してマウスの脳の中で元気がなくなっていたわけではなく、「大脳新皮質」以外の、ニワトリやスッポンにもある脳の部分には入り込んでいた。つまり、ニワトリやスッポンのGABA細胞は、移動中には「大脳新皮質」をなぜか認識できず、そのためにその中に入り込めないと考えられる。これらの結果は、大脳新皮質GABA細胞の哺乳類特有の移動経路の出現は、哺乳類特有の「移動するGABA細胞自身の性質」に起因していることを支持している。

(3)マウスとは明らかに異種であるが同じ哺乳類であるマーモセットのGABA細胞をマウスの脳に移植した結果、マーモセット細胞は

異種にも関わらずマウス細胞と同様に「大脳新皮質」に進入した。これらの結果は、大脳新皮質GABA細胞の哺乳類特有の移動経路の出現は、哺乳類特有の「移動するGABA細胞自身の性質」に起因していることを強く支持している。前年度の結果と合わせて考えると、これらの結果より、私たち哺乳類の祖先では、抑制性神経細胞が「大脳新皮質」にたどりつくことができるように進化した、と結論できる。

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1件)

Tanaka DH, Oiwa R, Sasaki E and Nakajima K. Changes in cortical interneuron migration contribute to the evolution of the neocortex.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 108 (19), 8015-8020 (2011) 査読有

[学会発表](計4件)

Tanaka Harada D, Oiwa R, Sasaki E and Nakajima K. Evolutionary developmental basis in the adaptation of pallial GABAergic interneurons to mammalian layered neocortex.

The 33th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, Kobe, Japan, 2010年9月24日

Tanaka Harada D, Oiwa R, Sasaki E and Nakajima K. Critical evolutionary steps for pallial GABAergic interneurons to adapt to mammalian layered neocortex.

The 43th Annual Meeting for the Japanese Society of Developmental Biologists, Kyoto, Japan, 2010年6月20-23日

Tanaka DH and Nakajima K. Migratory pathways of avian MGE-derived GABAergic interneurons in the mammalian neocortex: implications for the evolutionary adaptation in GABAergic interneuron migration.

Construction and Reconstruction of the Brain, Awaji, Japan, 2009年10月8-10日

Tanaka DH and Nakajima K. Behavior of avian pallial GABAergic interneurons in the mammalian neocortex: implications for the evolutionary adaptation to the neocortex in pallial GABAergic interneurons.

The 32th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, Nagoya, Japan, 2009

年9月16-18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〕

[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]

Tanaka DH, Guest, Science Café (WEcafe), Tokyo, Japan, 2011

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田中 大介 (TANAKA DAISUKE)

慶應義塾大学・医学部・助教

研究者番号：90456921