

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 19 日現在

機関番号：82609

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2014

課題番号：23570264

研究課題名(和文) 遺伝子制御ネットワークによる大脳皮質形成の分子機構の解明

研究課題名(英文) Molecular Mechanisms of gene regulatory network during corticogenesis

## 研究代表者

丸山 千秋 (OHTAKA-MARUYAMA, Chiaki)

公益財団法人東京都医学総合研究所・脳発達・神経再生研究分野・主席研究員

研究者番号：00281626

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：ヒトの脳への進化の基盤は、大脳皮質の複雑化を可能にした脳発生プログラムによるものが大きい。胚発生の過程で大脳皮質ができる際、新生ニューロンは脳の深部から表層に向かって徐々に遊走し、最終目的地にたどり着くと定着して6層構造が出来上がる。この過程が障害されると層構造が乱れ、脳形成異常や、様々な脳機能障害が発症することが知られている。しかしながらこの神経細胞移動過程の詳細なメカニズムについては不明な点が多い。本研究では、RP58転写抑制因子がこの層形成過程に重要な機能を持つ新規の制御因子であることを発見し、転写制御ネットワークにおける負のフィードバック機構の存在を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Expansion of human cortex during evolution depends in large part in developmental program that enables elaboration of neural circuit. During the formation of 6-layered neocortical structure, newborn neurons depart the ventricular zone and migrate toward the pial surface. It is suggested that impairment of these steps leads to develop brain malformation or various mental disorders. However, detailed molecular mechanisms are remained to be elucidated. In this study, we identified RP58 transcriptional repressor as a novel regulator for radial neuronal migration and revealed that negative feedback regulation of transcriptional regulatory network including RP58 and Ngn2 was critical for this regulation.

研究分野：神経発生学

キーワード：大脳皮質 RP58 転写制御 放射状移動 多極性細胞 双極性細胞 Ngn2 Rnd2

### 1. 研究開始当初の背景

哺乳類大脳皮質は6層構造をとっており、これは脳進化において、複雑な脳機能を担う構造基盤であると考えられる。我々はマウス発生期大脳皮質をモデルとして層構築に関わる分子機構の解明を試みている。これまでにRP58 転写抑制因子のノックアウトマウスを用いて本因子が神経細胞移動における多極性-双極性変換過程(図1)に必須であることが明らかになっている。また、その分子機構を明らかにするためにRP58の下流標的遺伝子の同定を行ってきた。

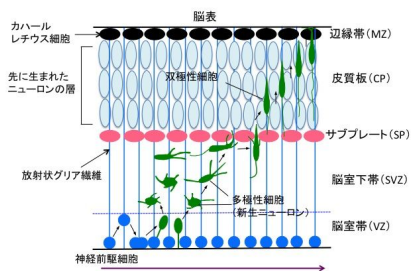


図1 大脳皮質形成時の放射状神経細胞移動過程

### 2. 研究の目的

大脳皮質形成における神経細胞移動のメカニズム解明は、脳形成異常や様々な精神疾患発症の原因解明の上でも重要な研究課題である。我々は発生期 RP58 転写抑制因子が新生興奮性神経細胞の放射状移動過程に必須の因子であることを見出した。そこでその詳細な分子機構を明らかにし、大脳皮質形成における転写制御ネットワークの解明を試みる。

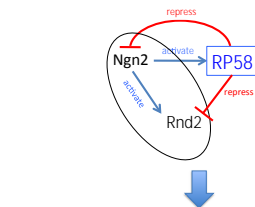
### 3. 研究の方法

RP58KO マウスでは Ngn2 の発現が上昇していることから、Ngn2 が下流標的遺伝子である可能性がある。そこで KO マウス脳で増加している Ngn2 を抑制することで移動障害がレスキューされるかについて調べた。その際、タイミングを内在性の RP58 発現に合わせることが重要である。そこで RP58 の遺伝子発現制御領域のキャラクタライズを行い、プロモーター領域を含む 5.3kb fragment が多極性細胞で強く発現が誘導できることを見出した。そこで、このコンストラクトを用いてタイミングよく Cre を発現させ、ノックダウンベクターの発現を誘導することで移動障害がレスキューするかどうかが解析した。

### 4. 研究成果

その結果、Ngn2 ノックダウンにより RP58KO の移動障害および細胞形態の表現型がレスキューされた(論文)。また、RP58 は Rho-シグナルを制御する低分子量 G タンパク質、Rnd2 の転写も直接抑制することも見だし、RP58KO で過剰になっている Rnd2 の発現を抑えることでも KO の表現型がレスキューされた(論文)。Rnd2 は Ngn2 によってその転写が活性化することから、RP58 が Ngn2 を抑え

ることで、その下流である Rnd2 の発現を間接的にも制御する。従って RP58 は、新生ニューロンが多極性から双極性に変換する際に、細胞形態を決定するアクチンの動態を、Rnd2 の発現をタイミングよく制限することによって制御していることが明らかになった(図2)。本研究成果によって、このような転写制御における負のフィードバック制御が、発生期の遺伝子の発現タイミング決定に重要な役割をしていることが示唆された。



Rhoシグナル制御を介したアクチン細胞骨格再構成

多極性細胞→双極性細胞への変換、移動の制御

図2 RP58 による Ngn2 のネガティブフィードバック制御

### 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4件)

Heng J I, Zhengdong Qu Ohtaka-Maruyama C† Okado H, Kasai M, Castro, D, Guillemot F, Tan S S., (2014) The zinc finger factor RP58 negatively regulates Rnd2 for the control of neuronal migration during cortical development. *Cerebral Cortex*, 3, 806-816 (2015) †Equal contribution (査読有) doi: 10.1093/cercor/bht277.

Ohtaka-Maruyama C, Hirai S, Miwa A, Heng J I, Shitara H, Ishii R, Taya C, Kawano H Kasai M, Nakajima K, Okado H., RP58 Regulates the Multipolar-Bipolar Transition of Newborn Neurons in the Developing Cerebral Cortex. *Cell Reports*, 3, 458-471(2013) (査読有) doi: 10.1016/j.celrep.2013.01.012.

Ohtaka-Maruyama C, Hirai S, Miwa A, Takahashi A, Okado H., The 5'-flanking region of the RP58 coding sequence shows prominent promoter activity in multipolar cells in the subventricular zone during corticogenesis. *Neuroscience.*, 201, 67-84, (2012) (査読有) doi: 10.1016/j.neuroscience.2011.11.006.

Hirai S, Miwa A, Ohtaka-Maruyama C, Kasai M, Okabe S, Hata Y, Okado H., RP58 controls neuron and astrocyte differentiation by downregulating the expression of Id1-4 genes in the developing cortex. *EMBO J.*, 31, 1190-1202,

(2012) (査読有) doi: 10.1038/emboj.2011.486.

[学会発表](計16件)

Chiaki Ohtaka-Maruyama, Mayumi Okamoto, Haruo Okado, Takaki Miyata, Nobuaki Maeda  
The functional roles of subplate neurons in the radial migration of newborn neurons in the developing mouse neocortex  
The 8th Annual Meeting for Japanese Developmental Neuroscientists (第8回神経発生討論会)2015年3月19日-20日 九州大学 (福岡県福岡市)

丸山千秋、岡本麻友美、岡戸晴生、宮田卓樹、前田信明 発生期サブプレートニューロンの神経活動は新生ニューロンの放射状移動に重要な役割をしている  
Neuronal activity of subplate neurons of the developing neocortex is crucial for the radial migration of late-born neurons  
第37回日本分子生物学会大会 2014年11月25日パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)

丸山千秋、岡本麻友美、岡戸晴生、宮田卓樹、前田信明 The subplate layer plays critical roles in the radial neuronal migration in the developing mouse neocortex  
第37回日本神経科学学会大会 2014年9月12日パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)

Chiaki Ohtaka-Maruyama, Mayumi Okamoto, Haruo Okado, Takaki Miyata, Nobuaki Maeda  
The subplate layer of the developing neocortex plays crucial roles in the radial neuronal migration  
Gordon Research Conference "Neural Development" 2014年8月12-17日 Salve Regina University, Newport, RI, USA

Chiaki Ohtaka-Maruyama, Mayumi Okamoto, Haruo Okado, Takaki Miyata, Nobuaki Maeda  
The roles of subplate layer in the radial migration of newborn neurons in the developing neocortex  
International meeting 「Cortical Development」  
2014年5月22-25日 MAIST CHANIA, CRETE, (ギリシャ、クレタ島)

丸山千秋 発生期大脳皮質の神経細胞移動におけるサブプレート層の役割  
第7回神経発生討論会 2014年3月13日大阪大学(大阪府吹田市)

Chiaki Ohtaka-Maruyama, Mayumi Okamoto,

Haruo Okado, Nobuaki Maeda The subplate layer (SP) is a critical barrier for migrating neurons in the developing neocortex  
Neuro2013 Satellite Symposium 「Molecular & Cellular Mechanisms of Brain Development & Evolution  
2013年6月19日、京都府立医大(京都府京都市)

丸山千秋、岡戸晴生  
Functional analysis of RP58 transcriptional repressor in neuronal migration during corticogenesis  
大脳皮質形成時の神経細胞移動におけるRP58転写抑制因子の機能解析  
第46回日本発生生物学会年会 2013年5月29日くにびきメッセ(島根県松江市)

丸山千秋 Zinc-finger 転写抑制因子 RP58 欠損マウスにおける神経細胞移動障害の解析 第6回神経発生討論会 2013年3月14日理化学研究所和光キャンパス 鈴木梅太郎ホール(埼玉県和光市)

Chiaki Ohtaka-Maruyama, Shinobu Hirai, Akiko Miwa, Julian Ik-Tsen Heng, Hiroshi Shitara, Rie Ishii, Choji Taya, Hitoshi Kawano, Masataka Kasai, Kazunori Nakajima, Haruo Okado RP58 regulates the multipolar-bipolar transition of newborn neurons in the developing cerebral cortex 第23回理研CDB meeting  
「Building multicellular systems from cellular cross-talk」, 2013年1月22日、理化学研究所発生・再生科学総合研究センター(兵庫県神戸市)

丸山千秋、三輪昭子、設楽浩志、石井里絵、多屋長治、葛西正孝、岡戸晴生  
Zincフィンガー転写抑制因子RP58は発生期大脳皮質において新生ニューロンの極性決定に必須の役割を果たす 第35回日本分子生物学会大会 2012年12月12日福岡国際会議場(福岡県福岡市)

丸山千秋、平井志伸、三輪昭子、設楽浩志、石井里絵、多屋長治、葛西正孝、岡戸晴生 RP58欠損による神経細胞移動障害のスライス培養を用いたライブセルイメージング 第35回日本神経科学学会大会 2012年9月21日名古屋国際会議場(愛知県名古屋市)

Chiaki Ohtaka-Maruyama, Shinobu Hirai, Akiko MIwa, Julian Ik-Tsen Heng, Hiroshi Shitara, Rie Ishii, Choji Taya, Hitoshi Kawan, Masataka Kasai, Kazunori Nakajima, Haruo Okado RP58 regulates the

Multipolar-Bipolar Transition of New born  
Neurons in the Developing Cerebral cortex.  
Gordon Research Conference "Neural  
Development" 2012年8月10-15日 Salve Regina  
University, Newport, RI, USA

Chiaki Ohtaka-Maruyama, Shinobu Hirai,  
Akiko Miwa, Julian Ik-Tsen Heng, Hiroshi  
Shitara, Rie Ishii, Choji Taya, Hitoshi Kawano,  
Masataka Kasai, Kazunori Nakajima, Haruo  
Okado RP58 controls neuronal migration through  
feedback regulation of Ngn2 transcription in the  
developing cerebral cortex  
第一回国際シンポジウム International  
Symposium "Neocortical Organization"  
2012年3月12日岡崎カンファレンスセンター  
(愛知県岡崎市)

丸山千秋、平井志伸、三輪昭子、設楽浩志、  
石井理絵、多屋長治、葛西正孝、岡戸晴生 転  
写抑制因子RP58欠損による神経細胞移動障害  
のライブセルイメージング解析 第5回神経発  
生討論会 2012年3月5日福井県民ホール ア  
オッサ(福井県福井市)

丸山千秋、平井志伸、三輪昭子、設楽浩志、  
石井里絵、多屋長治、葛西正孝、岡戸晴生  
転写抑制因子 RP58 欠損による神経細胞移動  
障害のスライス培養を用いたライブセルイ  
メージング 第34回日本分子生物学会年会  
2011年12月13日パシフィコ横浜(神奈川県  
横浜市)

[その他]

ホームページ等

<http://www.igakuken.or.jp/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

丸山 千秋 (MARUYAMA, Chiaki)

公益財団法人東京都医学総合研究所・脳発

達・神経再生研究分野

主席研究員

研究者番号：00281626

### (2) 研究分担者

岡戸 晴生 (OKADO, Haruo)

公益財団法人東京都医学総合研究所・脳発

達・神経再生研究分野

副参事研究員

研究者番号：60221842