

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17H03542

研究課題名(和文) 機能的な脳カラム構造形成を制御する分子機構

研究課題名(英文) Molecular mechanisms that regulate the formation of functional columnar unit in the brain

研究代表者

佐藤 純 (Sato, Makoto)

金沢大学・新学術創成研究機構・教授

研究者番号：30345235

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：脳の様々な領域はカラム構造と呼ばれる機能単位から成るため、カラムが形成される分子機構を理解することは神経科学において重要な研究課題である。しかし発生過程においてどのような細胞集団からどのようにカラム構造が作り出されるのか、そのメカニズムについてはほとんど分かっていなかった。シンプルなカラム構造を持つショウジョウバエ視覚中枢をモデル系として、進化的に保存されたカラム形成機構を明らかにした。具体的には、カラムを構成する神経細胞間の細胞接着力の差分、および細胞系譜に応じた神経細胞間の反発作用によるカラム形成機構を解明した。また、カラムを構成する神経細胞の方向性を決定する分子機構を解明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

カラム構造はハエやヒトなど様々な動物の脳において見られる脳の機能単位であるが、その発生機構はほとんど分かっていない。カラム構造の形成異常が様々な神経疾患を引き起こしている可能性が考えられるが、このような疾病の発症機序を理解し、治療に役立てるためにはカラム構造の形成機構を解明する基礎研究が必要不可欠である。本研究では細胞接着の差分、細胞系譜依存的な反発作用、神経細胞における平面内細胞極性といった進化的に保存された分子機構によるカラム形成機構を解明しており、カラム構造の形成機構だけでなく、その形成過程の異常による疾病の病態解明に資する重要な知見が得られたと言える。

研究成果の概要(英文)：Since various regions of the brain are composed of functional units called columnar structures, understanding the molecular mechanisms of column formation is an important research topic in neuroscience. However, the mechanism by which column structures are formed from different cell populations during development is still largely unknown. Using the *Drosophila* visual center, which has a simple column structure, as a model system, we have elucidated the evolutionarily conserved mechanism of column formation. Specifically, we elucidated the mechanism of column formation by differential cell adhesion between core columnar neurons and repulsive effects between neurons of the same lineage. We also elucidated the molecular mechanism that determines the orientation of the neurons constituting the column.

研究分野：発生生物学

キーワード：カラム構造 神経細胞 脳 ショウジョウバエ 視覚中枢 細胞接着 細胞系譜 平面内細胞極性

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

脳の様々な領域はカラム構造と呼ばれる機能単位から成るため、カラムが形成される分子機構を理解することは神経科学において重要な研究課題である。発生の進んだ脳において神経活動依存的にカラムの機能が成熟する過程については生理学的な研究が進められて来たが、発生の初期過程においてどのようにしてカラムの基本構造が形成するのかという問題についてはこれまでほとんど研究されて来なかった。哺乳類の脳において見られるカラム構造は数万もの神経細胞から成り極めて複雑だが、ショウジョウバエの視覚中枢において見られるカラム構造はたかだか100程度の神経細胞から成る。しかも、ハエの高度な遺伝学的手法を活用できるため、ハエの視覚中枢は進化的に保存されたカラム構造の形成機構を解明する上で優れたモデル系であると考えられた。

2. 研究の目的

本研究はハエ視覚中枢の発生過程におけるカラム構造の形成機構を解明することを目的とした。発生の最初期にカラムを構成する核となる神経細胞に着目し、細胞接着・反発、細胞系譜、平面内細胞極性といった、進化的に保存された分子機構に着目し、これらの分子機構によってカラムの基本構造が決定する過程、およびカラムの配置が制御される過程を解明することを目標とした。

3. 研究の方法

蛹期のハエ視覚中枢に着目し、発生の最初期にカラムに投射する神経細胞の軸索終末を可視化することで、カラム形成において中核的な役割を果たす神経細胞を同定する。その後、進化的に保存された細胞接着分子、反発性因子、平面内細胞極性を制御する因子の発現パターンを網羅的に調べ、これらの中でカラム形成に関与する分子を絞り込む。得られた候補遺伝子について、変異体や RNAi 系統を用いて細胞種特異的にそれらの機能を阻害し、カラム形成における役割を解明する。

4. 研究成果

細胞接着差分によるカラム形成機構

発生初期においては3つのコア神経細胞 R7, R8, Mi1 の軸索終末が平面上にドーナツ状に配置し、カラムの基本構造を形成することを明らかにした。さらに進化的に保存された細胞接着分子である細胞接着因子 N カドヘリン(Ncad)がこれら神経軸索の同心円状の配置を制御することを明らかにした。R7 の軸索終末はカラムの中心部に、R8 の軸索終末はその周囲に投射し、Mi1 は R8 のさらに外側の領域を占める。カドヘリンの発現量が異なる細胞集団を培養すると、発現量が高く接着力の強い細胞ほど細胞集団の中心に位置し、接着力の弱い細胞ほど外側に位置する事が知られている。実際、R7, R8, Mi1 それぞれにおいて特異的に Ncad を GFP ラベルした実験により、R7>R8>Mi1 の順に Ncad の発現量が異なることが分かった。

R7, R8, Mi1 神経細胞の分布密度に着目した数理モデルを用いてシミュレーションを行うと、これらの相対的な細胞接着力が R7>R8>Mi1 の順になっていれば自発的にカラム構造が形成されることが示された。この結果に基づき、R7 や R8 において特異的に Ncad をノックダウンすると、これらの軸索終末がカラムの外側に投射し、逆に R8 や Mi1 において特異的に Ncad を強制発現

すると、これらの神経突起がカラムの内側に投射した。これらのことから、R7, R8, Mi1 における Ncad による接着力の差によってカラムの基本構造が決定していることが示された。

Trush, O., Liu, C., Han, X., Nakai, Y., Takayama, R., Murakawa, H., Carrillo, J. A., Takechi, H., Hakeda-Suzuki, S., Suzuki T. and Sato, M. N-cadherin orchestrates self-organization of neurons within a columnar unit in the *Drosophila* medulla. **Journal of Neuroscience** 39, 5861-5880 (2019).

Carrillo, J. A., Murakawa, H., Sato, M., Togashi, H. and Trush, O. A population dynamics model of cell-cell adhesion incorporating population pressure and density saturation. **Journal of Theoretical Biology** 474, 14-24 (2019).

細胞系譜依存的反発によるカラム形成機構

神経幹細胞は多数の神経細胞を生み出し、細胞系譜の共通する神経細胞集団が同一のカラムを構成するという Radial Unit 仮説が提唱されているが、神経幹細胞とカラム構造の対応関係は未解明であった。本研究では細胞系譜の共通した姉妹神経細胞の軸索が互いに反発し、異なるカラムに投射することを見出し、この現象を細胞系譜依存的反発と名付けた。この現象を制御する分子としてダウン症の原因遺伝子として知られる Dscam1 に着目し、その機能を解析した。Dscam1 mRNA は分化した神経幹細胞において一過的に発現するが、Dscam1 蛋白質は娘神経細胞集団に分配され、軸索に集積する。Dscam1 は 20,000 ものプライスバリエーションを持つが、細胞系譜の共通した神経細胞同士が同じプライスバリエーションを共有し、互いに結合・反発することで、細胞系譜依存的反発が引き起こされることを解明した。実際、Dscam1 が 1 つのプライスバリエーションしか持たない変異体においてはカラム構造の形態と配置に異常が生じることを示した。

Liu, C., Trush, O., Han, X., Wang, M., Takayama, R., Yasugi, T., Hayashi, T., Sato, M. Dscam1 establishes the columnar units through lineage-dependent repulsion between sister neurons in the fly brain. **Nature Communications** 11, 4067 (2020).

平面内細胞極性によるカラム形成機構

1 つのカラムは多数の神経細胞から成るため、カラムの内部構造は複雑であり、なんらかの極性を持つと考えられる。本研究では平面内細胞極性を制御する WntPCP シグナルがカラムの方向性およびその配置を制御することを明らかにした。Wnt リガンドの DWnt4 はハエの脳の腹側で、DWnt10 は背側で特異的に発現し、背腹方向の濃度勾配を形成する。受容体である Fz1 は均一に発現し、Fz2 は背側で強く、腹側で弱い勾配を持った発現を示すが、いずれもカラムの正常な極性・配置にとって必須であることが変異体を用いた解析から明らかとなった。また、カラムを構成するコア神経細胞である Mi1 および R8 の神経突起は平面内細胞極性を示し、特定の方向に配向している。これら神経突起の配向性が WntPCP シグナルによって制御されることを示した。

Han, X., Wang, M., Liu, C., Trush, O., Takayama, R., Akiyama, T., Naito, T., Tomomizu, T., Imamura, K. and Sato, M. DWnt4 and DWnt10 regulate morphogenesis and arrangement of the columnar structures through Fz2/PCP signaling in the *Drosophila* medulla. **Cell Reports** 33, 108305 (2020).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

| | |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名 Tanaka, Y., Yasugi, T., Nagayama, M., *Sato, M. and *Ei, S. I. | 4. 巻 8 |
| 2. 論文標題 JAK/STAT guarantees robust neural stem cell differentiation by shutting off biological noise | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Scientific reports | 6. 最初と最後の頁 12484 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-018-30929-1 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Suzuki, T., Liu, C., Kato, S., Nishimura, K., Takechi, H., Yasugi, T., Takayama, R. Hakeda-Suzuki, S., Suzuki, T. and Sato, M. | 4. 巻 8 |
| 2. 論文標題 Netrin signaling defines the regional border in the Drosophila visual center | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 iScience | 6. 最初と最後の頁 148-160 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.isci.2018.09.021 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Sato, M., Yasugi, T. and Trush O. | 4. 巻 138 |
| 2. 論文標題 Temporal patterning of neurogenesis and neural wiring in the fly visual system | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Neuroscience Research | 6. 最初と最後の頁 49-58 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neures.2018.09.009 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Carrillo Jose A., Murakawa Hideki, Sato Makoto, Togashi Hideru, Trush Olena | 4. 巻 474 |
| 2. 論文標題 A population dynamics model of cell-cell adhesion incorporating population pressure and density saturation | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Theoretical Biology | 6. 最初と最後の頁 14~24 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jtbi.2019.04.023 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|---------------------------|
| 1. 著者名 Trush Olena, Liu Chuyan, Han Xujun, Nakai Yasuhiro, Takayama Rie, Murakawa Hideki, Carrillo Jose A., Takechi Hiroki, Hakeda-Suzuki Satoko, Suzuki Takashi, Sato Makoto | 4. 巻 39 |
| 2. 論文標題 N-Cadherin Orchestrates Self-Organization of Neurons within a Columnar Unit in the <i>Drosophila</i> Medulla | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 The Journal of Neuroscience | 6. 最初と最後の頁 5861 ~ 5880 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/JNEUROSCI.3107-18.2019 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|--------------------------|
| 1. 著者名 Ei Shin-Ichiro, Ishii Hiroshi, Sato Makoto, Tanaka Yoshitaro, Wang Miaoxing, Yasugi Tetsuo | 4. 巻 81 |
| 2. 論文標題 A continuation method for spatially discretized models with nonlocal interactions conserving size and shape of cells and lattices | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Mathematical Biology | 6. 最初と最後の頁 981 ~ 1028 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00285-020-01534-6 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名 Liu Chuyan, Trush Olena, Han Xujun, Wang Miaoxing, Takayama Rie, Yasugi Tetsuo, Hayashi Takashi, Sato Makoto | 4. 巻 11 |
| 2. 論文標題 Dscam1 establishes the columnar units through lineage-dependent repulsion between sister neurons in the fly brain | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Nature Communications | 6. 最初と最後の頁 4067-4080 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-020-17931-w | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|---|-------------------------------|
| 1. 著者名 Han Xujun, Wang Miaoxing, Liu Chuyan, Trush Olena, Takayama Rie, Akiyama Takaaki, Naito Toshiki, Tomomizu Takeshi, Imamura Kousuke, Sato Makoto | 4. 巻 33 |
| 2. 論文標題 DWnt4 and DWnt10 Regulate Morphogenesis and Arrangement of Columnar Units via Fz2/PCP Signaling in the <i>Drosophila</i> Brain | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Cell Reports | 6. 最初と最後の頁 108305 ~ 108305 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2020.108305 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

[学会発表] 計14件(うち招待講演 5件/うち国際学会 8件)

| |
|--|
| 1. 発表者名 Olena Trush |
| 2. 発表標題 Differential adhesion of N-cadherin in columnar unit organization in the Drosophila brain |
| 3. 学会等名 Japanese Society of Developmental Biologists |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Olena Trush |
| 2. 発表標題 Roles of N-cadherin in columnar unit organization in the medulla |
| 3. 学会等名 Annual Drosophila Research Confefence (国際学会) |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Olena Trush |
| 2. 発表標題 N-cadherin orchestrates self-organizing ensemble of neurons within a columnar unit in the fly brain |
| 3. 学会等名 Cold Spring Harbor Meeting Molecular Mechanisms of Neuronal Connectivity (国際学会) |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Olena Trush |
| 2. 発表標題 Differential adhesion of N-cadherin in columnar unit organization in the Drosophila brain |
| 3. 学会等名 Japanese Society of Developmental Biologists |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Olena Trush |
| 2. 発表標題 Roles of N-cadherin in columnar unit organization in the medulla |
| 3. 学会等名 Annual Drosophila Research Confefence (国際学会) |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Olena Trush |
| 2. 発表標題 N-cadherin orchestrates self-organizing ensemble of neurons within a columnar unit in the fly brain |
| 3. 学会等名 Cold Spring Harbor Meeting Molecular Mechanisms of Neuronal Connectivity (国際学会) |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Makoto Sato |
| 2. 発表標題 Mathematical modeling and genetic analysis of the wave of differentiation in the fly brain |
| 3. 学会等名 Society for Mathematical Biology (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Makoto Sato |
| 2. 発表標題 Tiling mechanisms of the compound eye |
| 3. 学会等名 日本発生生物学会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Makoto Sato |
| 2. 発表標題 Tiling mechanisms of the compound eye |
| 3. 学会等名 ICIAM2019 (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Makoto Sato |
| 2. 発表標題 Mathematical modeling and genetic analysis of the wave of differentiation in the fly brain |
| 3. 学会等名 日本生化学会 (招待講演) |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Makoto Sato |
| 2. 発表標題 Tiling mechanisms of the compound eye |
| 3. 学会等名 日本数理生物学会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Makoto Sato |
| 2. 発表標題 Tiling mechanisms of the compound eye |
| 3. 学会等名 An International Webinar Series on Arthropod Sensory Organs (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Makoto Sato |
| 2. 発表標題 Tiling mechanisms of the compound eye |
| 3. 学会等名 Micro-to-Macro Modelling in Developmental Biology (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Makoto Sato |
| 2. 発表標題 Fz2/PCP signaling regulates the morphogenesis and arrangement of the columnar structures in the fly brain |
| 3. 学会等名 JSDB Online Trial Meeting 2020 |
| 4. 発表年 2020年 |

〔図書〕 計1件

| | |
|---|-----------------|
| 1. 著者名 Sato, M. and Yasugi, T. | 4. 発行年 2020年 |
| 2. 出版社 Springer | 5. 総ページ数 15 |
| 3. 書名 Notch Signaling in Embryology and Cancer | |

〔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 |
|---------|---------|
|---------|---------|

| | | | | |
|----|-------------------------|----------------------|--|--|
| 英国 | Imperial College London | University of Oxford | | |
|----|-------------------------|----------------------|--|--|