

研究種目：基盤研究 (S)
研究期間：2007～2011
課題番号：19100006
研究課題名 (和文) 神経細胞多様化と神経回路組織化をもたらす分子メカニズムの解析
研究課題名 (英文) Molecular mechanism for neuronal diversity and organization in the brain
研究代表者
八木 健 (YAGI TAKESHI)
大阪大学・大学院生命機能研究科・教授
研究者番号：10241241

研究代表者の専門分野：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：カドヘリン、神経回路、遺伝子制御

1. 研究計画の概要

脳は多様化した神経細胞より構成され、組織化された神経回路網を形成し、秩序ある機能をもたらしている。この脳のシステムを理解してゆく為には、神経細胞の多様化と神経回路形成とを統合して捉える分子メカニズムを明らかにする必要がある。私たちはこれまでに、中枢神経系の神経細胞で発現する多様化分子群—CNR/プロトカドヘリン分子群—を発見した。興味深いことにこの CNR/プロトカドヘリン分子群は、細胞接着分子であり、ゲノム染色体で遺伝子クラスター構造を形成している。このゲノム構造は免疫グロブリンと類似したものであり、多様化したエクソンが縦列している可変領域と共通細胞内領域をコードする定常領域からなっている。また、CNR/プロトカドヘリンの可変領域エクソンは、個々の神経細胞で異なる組み合わせで発現している。これらの結果は、CNR/プロトカドヘリン分子群が中枢神経系における神経細胞の多様化と神経細胞相互作用に関与することを示唆している。

本研究は、多様化膜分子群である CNR/プロトカドヘリン分子群を用いて神経細胞の多様化に関わる遺伝子制御メカニズムと神経回路形成メカニズムを明らかにすることを目的としている。そこで本研究では、CNR/プロトカドヘリン遺伝子の発現制御に関わる DNA メチル化、遺伝子クラスター構造、シスエレメント、制御因子の解析を行うことにより、個々の神経細胞の多様化をもたらす分子メカニズムの解析を行う。また、CNR/プロトカドヘリン遺伝子欠損マウスの作製により、神経回路形成に関わる分子機能の解析を行う。

2. 研究の進捗状況

(1) CNR/プロトカドヘリン α のプロモーター領域の DNA メチル化による遺伝子発現制御の関与を明らかにした (Kawaguchi et al 2008)。
(2) CNR/プロトカドヘリン α 遺伝子クラスター構造を変換させたマウスの作製を行った結果、個々の神経細胞における遺伝子発現制御に遺伝子クラスター構造が関与していることが明らかとなった (Noguchi et al 2009)。脳において、個々の神経細胞でのランダムな遺伝子制御が示唆されたことは、神経回路をもたらす新たな遺伝的プログラムを示唆するものであった。
(3) CNR/プロトカドヘリン α 定常領域欠損において、嗅神経軸索の嗅球糸球体への異所的な投射異常が認められた。これらの結果より、CNR/プロトカドヘリン α が正確な嗅神経回路形成において必須であることが明らかになった (Hasegawa et al 2008)。
(4) CNR/プロトカドヘリン α が縫線核にあるセロトニン神経で特に強く発現していることが明らかとなった。CNR/プロトカドヘリン α 定常領域欠損では、通常の成体マウスで広範にほぼ均一に分布しているセロトニン神経軸索の分布が、セロトニン神経の最終標的領域である大脳皮質、海馬、視床、線条体、嗅球など多くの脳領域で認められた。これらの結果より、CNR/プロトカドヘリン α がセロトニン神経の広範で均一な神経回路形成に必須であることが明らかとなった (Katori et al 2009)。
(5) CNR/プロトカドヘリン α 定常領域欠損マウスを用いて網羅的な行動異常の解析を行った結果、運動、感覚、不安などでは大きな

行動異常が認められないものの、文脈依存的な恐怖条件付け学習と8本放射状迷路での空間ワーキングメモリーにおいて異常な亢進が認められた。(Fukuda et al 2008)。これらの結果は、CNR/プロトカドヘリン α が哺乳動物の学習・記憶における行動制御に関わることを示唆する結果である。

3. 現在までの達成度

①当初の計画以上に進展している。

(理由)

平成21年度までに、プロモーター領域のDNAメチル化、遺伝子クラスターを変換したマウスの作製と単一神経細胞における発現パターンの変化、CNR/プロトカドヘリン α 定常領域欠損マウスにおける神経回路形成異常の解析、嗅神経投射、セロトニン神経投射、行動解析について論文を発表して成果をあげている。また、調節シスエレメントを同定し、この領域欠損マウス作製を終了している。更に、遺伝子発現に関わる調節因子の同定に成功し、この調節因子欠損マウスの解析を開始している。更に、 α 、 β 、 γ 遺伝子クラスターの遺伝子欠損マウス、コンディショナル遺伝子欠損マウスの表現型解析を進め、発達障害、行動異常が明らかとなってきた。

以上のように、研究計画が順調に進められており目標を超えたスピードで研究が進行している。また、統合失調症などの精神疾患との関連性が新たに示されてきている。本研究期間で、神経細胞の多様性と組織的神経回路形成を捉える為の材料、方法、考え方が順調に集約されてきており、複雑な神経回路形成での、これまでにない高い独創性をもつ研究に発展する可能性を強く感じている。

4. 今後の研究の推進方策

今後も継続して、CNR/プロトカドヘリン遺伝子クラスターを用いた神経細胞多様化と神経回路形成メカニズムを明らかにして行く。特に、遺伝子変換マウスを用いた神経回路形成について解析を進める。

5. 代表的な研究成果

[雑誌論文] (計 25件)

①Noguchi Y, Hirabayashi T, Katori S, Kawamura Y, Sanbo M, Hirabayashi M, Kiyonari H, Nakao K, Uchimura A, Yagi T, Total expression and dual gene-regulatory mechanisms maintained in deletions and duplications of the Pcdha cluster. The Journal of Biological Chemistry 284, 32002-32014 (2009) 査読有り。

②Katori S, Hamada S, Noguchi Y, Fukuda E, Yamamoto T, Yamamoto H, Hasegawa S, Yagi T, Protocadherin-alpha family is required for serotonergic projections to

appropriately innervate target brain areas. The Journal of Neuroscience 29, 9137-9147 (2009) 査読有り。

③Fukuda E, Hamada S, Hasegawa S, Katori S, Sanbo M, Miyakawa T, Yamamoto T, Yamamoto H, Hirabayashi T, Yagi T, Down-regulation of protocadherin-alpha A isoforms in mice changes contextual fear conditioning and spatial working memory. The European Journal of Neuroscience 28, 1362-1376 (2008) 査読有り。

④Hasegawa S, Hamada S, Kumode Y, Esumi S, Katori S, Fukuda E, Uchiyama Y, Hirabayashi T, Mombaerts P, Yagi T, The protocadherin-alpha family is involved in axonal coalescence of olfactory sensory neurons into glomeruli of the olfactory bulb in mouse. Molecular and Cellular Neurosciences 38, 66-79 (2008) 査読有り。

⑤Kawaguchi M, Toyama T, Kaneko R, Hirayama T, Kawamura Y, Yagi T, Relationship between DNA methylation states and transcription of individual isoforms encoded by the protocadherin-alpha gene cluster. The Journal of Biological Chemistry 283, 12064-12075 (2008) 査読有り。

[学会発表] (計 48件)

①Yagi T, Hasegawa S, Katori S, Noguchi Y, Kawaguchi M, Clustered protocadherin-alpha gene family in the brain: gene regulation and function. Keystone Symposia, Epigenetic Basis of Neurodevelopmental Disorders, 2009年3月6日 Keystone, USA.

②Itoga Y, Hamada S, Hirabayashi T, Yagi T, Protocadherin γ in excitatory neurons regulate cell survival in cortex and hippocampus. Neuroscience 2009, 2009年10月17日, Chicago, USA.

[産業財産権]

○出願状況 (計 1件)

名称: 水溶性近赤外蛍光材料およびマルチモード水溶性近赤外蛍光材料

発明者: 神隆、吉岡芳親、駒井豊、大澤五住、八木健、金子涼輔、精山明敏、関 淳二

権利者: 大阪大学

種類: 特許権

番号: 特願 2008-130884 号

出願年月日: 2008年5月19日

国内外の別: 国内

[その他]

ホームページ

<http://www.fbs.osaka-u.ac.jp/labs/yagi/index.htm>