

令和 2 年 6 月 4 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07045

研究課題名(和文) 神経前駆細胞の細胞運命を制御するG蛋白質共役受容体シグナルの役割解析

研究課題名(英文) Analysis of roles of G-protein coupled receptor signaling in neurodevelopment

研究代表者

眞田 佳門 (Kamon, Sanada)

東京大学・大学院理学系研究科(理学部)・准教授

研究者番号：50431896

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：脳の発生過程において、神経細胞は神経前駆細胞から誕生し、新生した神経細胞は目的地に向かって移動する。これら一連のプロセスは脳発生に極めて重要であるが、神経細胞の誕生および神経細胞移動をコントロールする細胞外因子およびその作用機序に関する研究は充分ではない。本研究では、細胞外分子であるリゾフォスファチジン酸が重要であり、リゾフォスファチジン酸の情報を神経細胞が受け取り(リゾフォスファチジン酸受容体4を介して)、その結果、神経細胞が形態変化して移動を開始することを明らかにした。本研究により、神経細胞と周囲の環境との相互作用を司るインターフェースの分子実体とその役割を明らかにすることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

従来、神経細胞移動を制御する細胞外環境因子はほとんど不明であった。私共は近年、G蛋白質共役受容体と呼ばれる一群の受容体に着目して解析を進め、脳発生におけるその重要性を示すという極めて独創的な研究を展開しており、他の追随を許さない成果を挙げている。本研究で見出したリゾフォスファチジン酸受容体4はG蛋白質共役受容体の1種であり、G蛋白質共役受容体を介した情報伝達が神経細胞移動に極めて重要であることを世界に先駆けて報告したものである。また、本成果は、神経細胞移動という複雑なシステムを理解する上で、細胞外環境の重要性を提示しており、当該分野の将来の研究展開に大きな影響を及ぼすと自負している。

研究成果の概要(英文)：During the brain development, newborn neurons derived from neural progenitor cells undergo neuronal migration. The process (neurogenesis and neuronal migration) is essential for neurodevelopment. However, the cell-extrinsic signals that govern neurogenesis and neuronal migration are poorly understood. In the present study, we find that lysophosphatidic acid acts as an important extrinsic signal that direct neuronal migration. In detail, lysophosphatidic acid contributes to the morphological transformation of newborn neurons to undergo neuronal migration through LPA receptor 4 expressed in migratory neurons. The present study thus uncovered the molecular machinery and role of the interface between migratory neurons and their extracellular environment.

研究分野：神経科学

キーワード：大脳新皮質 神経細胞移動 G蛋白質共役受容体 リゾフォスファチジン酸

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

哺乳類の大脳新皮質は、記憶・認知や運動の制御などの高次脳機能を司る脳領域である。大脳新皮質の形成過程において、神経前駆細胞は脳室を取り囲む領域(脳室帯)に局限して存在する(図1参照)。大脳新皮質形成の初期段階では、神経前駆細胞は自己複製してその数を増やす。一方、発生が進むのに伴って神経前駆細胞は非対称分裂し、神経細胞や intermediate 前駆細胞(将来、神経細胞になる細胞)を生み出すようになる(図1)。一方、新生した神経細胞はその後、形態を大きく変化させながら脳表層側へと移動する。このように、神経前駆細胞の細胞運命や神経細胞移動の様式は、脳発生時期や脳領域に応じて厳密に規定されており、この制御には、細胞内プログラムのみならず細胞外環境が寄与することが示唆されている。このような役割を持つ細胞外因子を明らかにし、その作用の仕組みを理解することは、複雑な脳発生の機序を明らかにするためには極めて重要である。

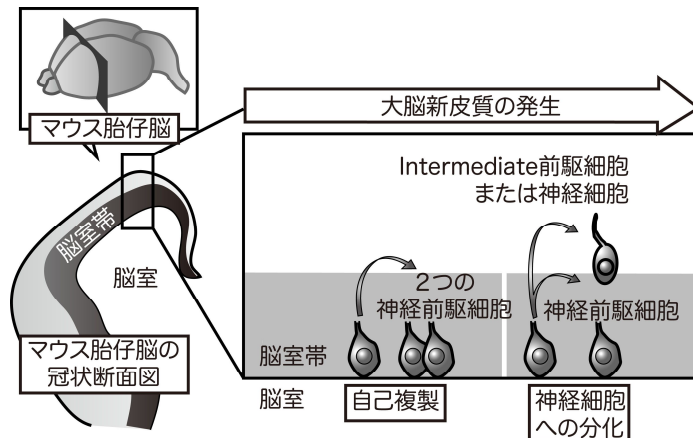


図1 マウス大脳新皮質における神経前駆細胞の挙動

2. 研究の目的

従来、神経前駆細胞の運命制御に寄与する細胞外シグナル受容体として、増殖因子受容体やサイトカイン受容体等が数多く同定されている。しかしながら、膜受容体の中で最大のスーパーファミリーを形成するG蛋白質共役受容体(GPCR)の寄与についてはほとんど謎であった。私共はこれまで、神経前駆細胞に選択的に発現するGPCRを同定し、その役割を明らかにするなど、神経前駆細胞と外部環境とのインターフェースとして、GPCRシグナリングの重要性を示してきた(Cell, 2005; Development 2013; Scientific Reports, 2016)。つまり、神経前駆細胞と外部環境との相互作用を理解する上で、GPCRシグナリングの重要性がこれまで見過ごされていた可能性が推察できた。本研究では、神経前駆細胞の運命制御および神経細胞の移動をコントロールする外部環境因子としてリゾファスファチジン酸およびセロトニンに着目し、大脳新皮質の発生制御における役割を明らかにする。これら因子の受容体はGPCRであることから、本研究により、神経前駆細胞や神経細胞の適切なコントロールにおけるGPCRシグナリングの重要性を明らかにできると共に、大脳新皮質の形成に寄与する細胞外環境因子の分子実体とその役割に迫る。

3. 研究の方法

本研究で着目するリゾファスファチジン酸は、大脳新皮質内において生合成されている。そこで、移動中の神経細胞において、リゾファスファチジン酸の受容体の発現を抑制する、移動中の神経細胞にリゾファスファチジン酸を投与する、逆に大脳新皮質内のリゾファスファチジン酸合成を減弱させるなどを実施し、これら処理が神経細胞移動に及ぼす影響を精査する。また、セロトニンについては、従来の研究から母親由来であることが判っている。そこで、母親におけるセロトニン合成を低下させるなどし、大脳新皮質の神経前駆細胞の挙動に及ぼす影響を精査する。

4. 研究成果

(1) 大脳新皮質において、新生した神経細胞は脳表層側の最終目的地へと移動する。この細胞移動は、正常な脳構築において不可欠のイベントである。この神経細胞移動の過程において、誕生直後の神経細胞は、複数の短い突起をもった多極性の形態を示す。その後、脳室側に軸索を伸長すると共に、中心体やゴルジ体を細胞体のアピカル側に局在させ、最終的にその周辺領域から先端突起を進展させて二極性の形態に変化する(図2)。また、この二極性への形態変化にともなって、神経細胞は脳表層側へと移動を開始する。つまり、この一連の形態変化は、その後の神経細胞移動に極めて重要であり、細胞外からのシグナルによって引き起こされると考えられるが、そのシグナリングの分子実体の理解はあまり進んでいない。

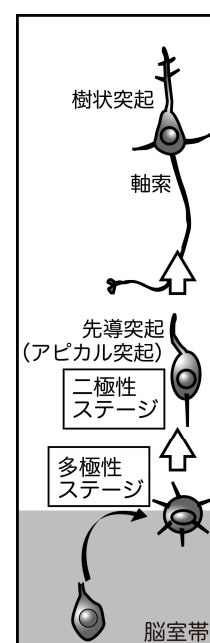


図2 新生した神経細胞の形態変化

本研究では、細胞外シグナルの候補分子としてリゾフォスファチジン酸（LPA）に着目した。哺乳類において、LPAの受容体は少なくとも6種類存在し、それぞれLPA1～LPA6と呼ばれる。私共は発生期のマウス大脳新皮質において、移動中の神経細胞にLPA4が発現していることを見出した。そこで、LPA4の役割を調べた結果、LPA4をノックダウンした神経細胞は、移動が停滞すること、さらに多極性形態の状態で維持されることが判明した。このことから、LPA4は多極性から二極性への形態変化に重要であることが判った。実際、詳細な解析により、LPA合成を阻害したり、LPA4をノックダウンした場合、先導突起の形成が不全になることが判明した。つまり、LPA-LPA4のシグナルは、先導突起の形成に必要不可欠であった。さらに、細胞内でのアクチン細胞骨格の挙動を精査した

結果、LPA-LPA4シグナルの攪乱により、アピカル側（進行方向側）でのアクチン細胞骨格の再構成が正しく実行されないことが明らかになった。また、これらLPA-LPA4を介したシグナリングは、アクチン制御タンパク質の一つであるFilaminAの安定化を促すことを見出した。これらの結果から、多極性から二極性への形態変化の過程において、

LPA-LPA4-FilaminA経路が神経細胞のアクチン細胞骨格の再構成を誘導する

こと、さらに、その結果として先導突起が伸長して二極性形態になることが明らかになった（図3）。本研究結果は、Development誌（Kurabayashi et al., 2018）に発表した。

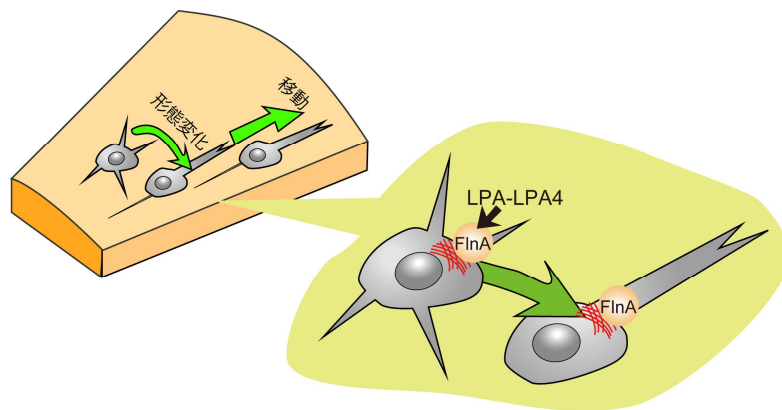


図3 神経細胞の形態変化における LPA-LPA4 の役割

（2）マウス脳発生初期（胎生9-12日目）では、前脳にセロトニンが蓄積している。しかしながら、当該時期ではセロトニン作動性ニューロンが前脳に投射しておらず、また脳以外の組織ではセロトニン合成が殆ど行われていない。このことから、この前脳のセロトニンは胎仔自身に由来するのではなく、母親由来であることが知られる（図4）。つまり、母マウスの血中セロトニンが胎盤を介して胎仔脳に届くと考えられている。しかしながら、その役割については未知である。

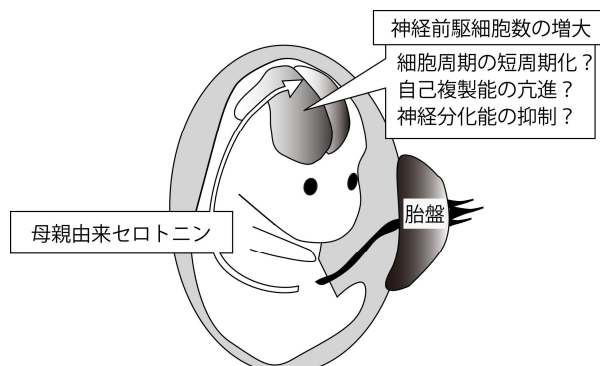


図4 母親由来セロトニンの役割のモデル

私共はこれまで、複数種類のセロトニン受容体（G蛋白質共役受容体型）が神経前駆細胞に発現していることを見出した。さらに母マウスの血中セロトニン量を低下させると、胎仔の前脳セロトニン量が低下すると共に、前脳が小さくなることを見出した。また前脳の脳新皮質において、神経前駆細胞数が顕著に減少していることが明らかになった。このような結果を基に、神経前駆細胞の挙動を詳細に解析した。その結果、上述した処理と呼応して、神経前駆細胞の細胞周期が長周期化していること、神経前駆細胞の増殖が抑制されていること、さらに神経分化が促進していることを見出した。

脳発生初期には神経前駆細胞が盛んに自己複製していることを考え合わせると、『母親由来セロトニンが神経前駆細胞のセロトニン受容体を介して自己複製を促進し、正常な脳形成に寄与している』可能性が推察できた。

< 引用文献 >

- Sanada K, Gupta A, Tsai LH. Disabled-1-regulated adhesion of migrating neurons to radial glial fiber contributes to neuronal positioning during early corticogenesis. *Neuron* 42,197-211 (2004)
- Kurabayashi N, Nguyen MD, Sanada K. The G protein-coupled receptor GPRC5B contributes to neurogenesis in the developing neocortex. *Development* 140, 4335-4346 (2013)
- Takeo Y, Kurabayashi N, Nguyen MD, Sanada K. The G protein-coupled receptor GPR157 regulates neuronal differentiation of radial glial progenitors through the Gq-IP₃ pathway. *Scientific Reports* 6, Article number: 25180 (2016)
- Kurabayashi N, Tanaka A, Nguyen MD, Sanada K. The LPA-LPA4 axis is required for establishment of bipolar morphology and radial migration of newborn cortical neurons. *Development* 145, dev162529 (2018)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Nobuhiro Kurabayashi, Aiki Tanaka, Minh Dang Nguyen and Kamon Sanada	4. 巻 145
2. 論文標題 The LPA-LPA4 axis is required for establishment of bipolar morphology and radial migration of newborn cortical neurons	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Development	6. 最初と最後の頁 dev162529
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1242/dev.162529	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 該当する

1. 著者名 Nobuhiro Kurabayashi, Minh Dang Nguyen and Kamon Sanada	4. 巻 138
2. 論文標題 Triple play of DYRK1A kinase in cortical progenitor cells of Trisomy 21	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neuroscience Research	6. 最初と最後の頁 19-25
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neures.2018.09.007	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 該当する

1. 著者名 倉林伸博、眞田佳門	4. 巻 137
2. 論文標題 ダウン症脳における神経幹細胞のニューロン分化異常を引き起こす分子基盤	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 薬理雑誌	6. 最初と最後の頁 795-800
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
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 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 2件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Tanaka A, Kurabayashi N, Sanada K
2. 発表標題 Extracellular LPA-mediated regulation of neocortical neuronal migration
3. 学会等名 International Young Scientists Workshop on Neural Development & Stem Cells（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 田中合紀、倉林伸博、眞田佳門
2. 発表標題 ダウン症モデルマウスの大脳新皮質における神経発生異常のメカニズムの解析
3. 学会等名 次世代脳プロジェクト冬のシンポジウム2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kurabayashi N, Sanada K
2. 発表標題 DYRK1A overexpression contributes to enhanced astrogliogenesis in a Down syndrome mouse model
3. 学会等名 DYRKs-conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Kurabayashi N, Sanada K
2. 発表標題 Role of LPA signaling in radial migration of newborn cortical neurons
3. 学会等名 The 10th Annual meeting for Japanese developmental neuroscientists
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Tanaka A, Kurabayashi N, Sanada K
2. 発表標題 Analysis of the mechanisms of neocortical neurogenesis dysfunction in a Down syndrome mouse model
3. 学会等名 The 10th Annual meeting for Japanese developmental neuroscientists
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Tanaka A, Kurabayashi N, Sanada K
2. 発表標題 Role of the LPA-LPA4 axis in bipolar morphology establishment and radial migration of cortical neurons
3. 学会等名 International Young Scientists Workshop on Neural Development and Stem Cells 2018
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

遺伝子実験施設Web http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/mgrl/sanada/index.html homepage http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/mgrl/sanada/index.html
--

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