

機関番号：11301

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20500306

研究課題名 (和文) 頭部感覚神経節の発生と神経細胞の極性・軸索伸長における細胞内分子機構の解明

研究課題名 (英文) Cellular and Molecular mechanisms in polarized development and axonogenesis of cranial ganglia neurons

研究代表者

前田(佐藤) 美香 (MAEDA (SATOU) MIKA)

東北大学・加齢医学研究所・産学官連携研究員

研究者番号：49292205

研究成果の概要 (和文)：

CRMP ファミリー遺伝子のノックダウンによって三叉神経細胞の配列方向と軸索出現部位が無秩序になること、またこれに伴って軸索伸長が不良になり、細胞体の異常運動が引き起こされることを見いだした。これに加えて同様の神経細胞の異常が、ニューロピリン・Ig スーパーファミリー・カドヘリン、のノックダウンによっても起きることを明らかにした。これらの遺伝子群と CRMP ファミリーの 2 重ノックダウンではそれぞれに相乗的な効果が観察され、遺伝子産物の作用が同一の遺伝学的カスケード上にあることが示唆されている。さらに、これらの遺伝子群のノックダウンのいくつかは、運動神経にも同様の発生異常を引き起こすことを発見した。この現象については、運動神経軸索の伸長に追従し軸索を取り囲んで発生する、グリア細胞の機能異常が原因の 1 つであることを明らかにした。

研究成果の概要 (英文)：

In this study, we found knock down of CRMP family members causes developmental defect in cranial ganglia. By live observation, defect is caused by random alignment of neuronal cell bodies and axonogenetic region, and abnormal cellular migration. These defects were also caused by knock down of neuropilins and adherence molecules, and double knock down analysis implies these molecules are in a same genetic pathway.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,300,000 円	390,000 円	1,690,000 円
2009 年度	1,100,000 円	330,000 円	1,430,000 円
2010 年度	1,100,000 円	330,000 円	1,430,000 円
年度			
年度			
総計	3,500,000 円	1,050,000 円	4,550,000 円

研究代表者の研究分野：発生生物学

科研費の分科・細目：神経科学・神経解剖学・神経病理学

キーワード：神経発生・ゼブラフィッシュ

## 1. 研究開始当初の背景

**CRMP** ファミリーは神経軸索ガイド因子セマフォリンの成長円錐反発作用を仲介する細胞内のシグナル因子として同定されたが、当時の研究からはそれ以外にもさまざまなシグナル分子、低分子量 **G** タンパク・リン酸化酵素などの制御を受けて、神経細胞の形態変化や極性の確立・軸索伸長などを制御することが示されてきていた。この遺伝子ファミリーの興味深い点はセマフォリンやエフリンなどの細胞外からのシグナルの受け手としてリン酸化により活性が制御される側面と、チューブリンやアクチン、細胞間接着分子などに作用することにより直接・間接に細胞運動などを制御する側面の両者を併せ持っていることである。しかしながら、多様な因子群との作用が存在する中で、体系的かつ統合的にその分子機能をとらえ、実際に細胞レベルでみられる生命現象と結びつけていく作業が未解決の問題として残されていた。

## 2. 研究の目的

**CRMP** ファミリーの神経細胞の発生・分化における役割を、ゼブラフィッシュ頭部感覚神経節の形成・細胞運動・軸索伸長における分子機能との関連から解き明かすことを目的とした。

## 3. 研究の方法

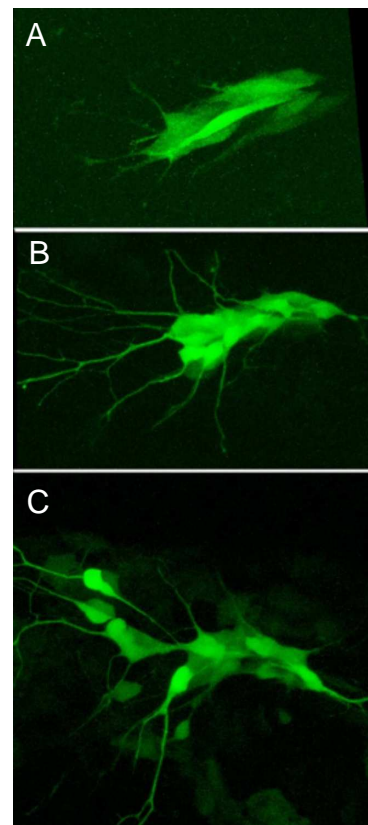
5個の **CRMP** ファミリー遺伝子のモルフォリーノ・アンチセンスオリゴをゼブラフィッシュ受精卵に注入することによりノックダウン胚を作成した。続いて頭部神経節細胞に **GFP** を発現するトランスジェニックシステムを用いて、ライブイメージングを行った。イメージングの観察結果から、関連する細胞接着因子・シグナル分子の同一カスケード上での関与、または協調作用を検討した。

## 4. 研究成果

(1) **CRMP** ファミリー遺伝子のノックダウンにより、神経細胞の配列方向と軸索出

現部位が無秩序になり、これに伴って軸索伸長の不良と細胞体の異常運動を引き起こすことを見いだした。

- (2) 同様な異常が分泌型セマフォリンのレセプター構成因子であるニューロピリン、その細胞内シグナル伝達を担う **Cdk5**、さらに細胞間接着分子として知られる **N**-カドヘリン **L1-CAM**、**TAG1**、のノックダウンで起きることを明らかにした。
- (3) 頭部感覚神経節の神経細胞で見られたものと同様な異常が、脊髄運動神経でも観察され、また異常を引き起こす原因遺伝子に共通性があることを見いだした。さらに、この異常はグリア細胞に依存していることを発見した。



- A: 野生型での軸索伸長開始期の三叉神経  
B: 野生型での軸索伸長中の三叉神経  
C: **Crmp** ファミリーノックダウン胚における軸索伸長中の三叉神経。一部の神経細胞は細胞核が移動を始め、神経節から逸脱してしまう。

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 2 件)

1. Shoji, W. and Sato-Maeda, M.,  
Application of heat shock promoter in  
transgenic zebrafish, *Dev Growth  
Differ*, 50, p401-406, 2008 (査読あり)
2. Sato-Maeda, M., Obinata, M., and  
Shoji, W., Position Fine-Tuning of  
Caudal Primary Motor Neurons in  
Zebrafish Spinal Cord, *Development*,  
135, p323-332, 2008 (査読あり)

[学会発表] (計 11 件)

1. 前田 (佐藤) 美香、東海林 互, 神経冠  
細胞と運動神経軸索との相互作用が、脊  
髄内・外のインターフェースの保全に果  
たすについて, 第 135 回東北大学加齢  
医学研究所・集談会、2011 年 1 月 28  
日、仙台市
2. 前田 (佐藤) 美香、東海林 互, ゼブラ  
フィッシュ胚における一次運動神経細  
胞体を脊髄に保持する機構について,  
第 81 回日本動物学会年会、2010 年 9  
月 23 日、東京都
3. Sato-Maeda, M. and Shoji, W., neural  
crest-derived cells are involved with  
early mechanisms to maintain  
motoneuron cell bodies in zebrafish  
embryonic spinal cord、第 43 回日本発  
生生物学会年会、2010 年 6 月 21 日、  
京都市
4. 前田 (佐藤) 美香、東海林 互、Neural  
crest-derived cells maintain motor  
neuron cell bodies in zebrafish  
embryonic spinal cord、第 32 回日本分  
子生物学会年会、2009 年 12 月 11 日、  
横浜市
5. 前田 (佐藤) 美香、東海林 互, ゼブラ  
フィッシュ運動神経細胞体の脊髄から  
の脱落現象について, 第 80 回日本動  
物学会年会、2009 年 9 月 17 日静岡市
6. 前田 (佐藤) 美香、東海林 互, ゼブラ  
フィッシュ胚・運動神経細胞体の脊髄か  
らの脱落現象, 第 15 回小型魚類研究  
会、2009 年 9 月 12 日、名古屋市

7. 前田 (佐藤) 美香、東海林 互、ゼブラフ  
イッシュ一次運動神経における細胞体  
の位置調整、日本動物学会第 79 回大会、  
2008 年 9 月 6 日、福岡市

8. 前田 (佐藤) 美香、東海林 互、ゼブラフ  
イッシュ一次運動神経の細胞体を、周期  
的に配置する機構についての研究、平成  
20 年度日本動物学会 OM 賞受賞講演、  
2008 年 9 月 5 日、福岡市

9. Sato-Maeda, M., and Shoji, W.,  
Generation of iterative motor nerve  
pattern in zebrafish spinal cord,  
*Frontiers in Developmental Biology*,  
Joint meeting of the French and  
Japanese Societies for Developmental  
Biology, 2008 年 9 月 13 日、Giens (フ  
ランス)

10. Sato-Maeda, M., and Shoji, W.,  
Generation of iterative motor nerve  
pattern in zebrafish spinal cord, Axon  
guidance, Synaptogenesis & Neural  
plasticity in Cold Spring Harbor  
Laboratory, 2008 年 9 月 10 日、Cold  
Spring Harbor (米国)

11. Sato-Maeda, M., Obinata, M., and  
Shoji, W. Positional adjustment of  
zebrafish primary motoneurons  
before axonogenesis, 第 41 回日本発生  
生物学会, 2008 年 5 月 28 日、徳島市

[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]

ホームページ等

<http://www.idac.tohoku.ac.jp/dep/cellbio/Site04F/Site04/zindex>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

前田(佐藤) 美香 (MAEDA(SATOU) MIKA)  
東北大学・加齢医学研究所・産学官連携  
研究員

研究者番号: 49292205

(2)研究分担者  
なし

(3)連携研究者  
なし