

平成 22 年 6 月 16 日現在

研究種目：若手研究(B)  
 研究期間：2008～2009  
 課題番号：20700288  
 研究課題名（和文） マーモセット大脳皮質における抑制性神経細胞の移動経路・様式の解明  
 研究課題名（英文） Migratory pathway and mode of inhibitory neurons within the marmoset cerebral cortex  
 研究代表者  
 田中 大介（TANAKA DAISUKE）  
 慶應義塾大学・医学部・助教  
 研究者番号：90456921

## 研究成果の概要（和文）：

本研究では真猿類に属するコモンマーモセット大脳皮質における抑制性神経細胞の移動経路・様式の同定と齧歯類におけるそれらとの違いの同定を目指した。結果、大脳皮質抑制性神経細胞の大脳皮質内での移動経路・様式はげっ歯類と真猿類でほぼ同じであり、哺乳類において共通して保存されていることが明らかとなった一方、移動細胞の移動能を比較した結果、霊長類はげっ歯類のそれに比べて内在的に移動を継続する特性が長期間にわたって維持されていることが示唆された。

## 研究成果の概要（英文）：

I examined the migratory pathways and modes of inhibitory neurons within the developing marmoset (monkey) cerebral cortex and differences between the marmoset and mouse (rodent) in terms of their migratory pathways, modes and motility. I found that migratory pathway and mode were similar between marmoset and mouse, but marmoset cells showed higher motility compared to mouse cells.

## 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	3,100,000	930,000	4,030,000
2009年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

## 研究分野：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：発生・発達・再生神経科学

## 1. 研究開始当初の背景

神経細胞の移動は、脳の形成過程において極めて重要なイベントである。発生期、多くの神経細胞は生まれる場所と最終的に回路網を形成し機能する場所が異なるために、生ま

れた直後から最終目的地に向けて移動する必要がある。

大脳皮質の神経細胞は二種類に大別する事ができる。一つは興奮性のグルタミン酸作動性神経細胞、もう一つは抑制性の -アミノ

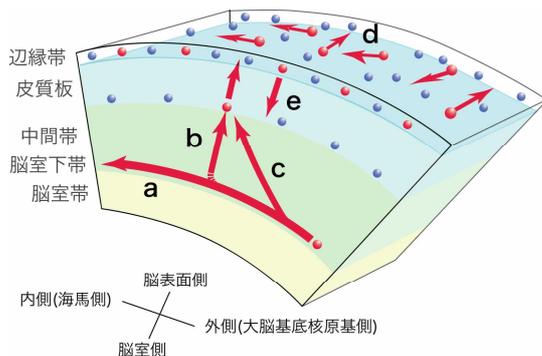
酪酸(GABA)作動性神経細胞である。齧歯類において、興奮性神経細胞は大脳皮質の脳室帯で生まれたのち、「多極性移動」や「トランスロケーション」、「ロコモーション」といった様々な移動様式で、脳表面に対し垂直に移動することが知られている。一方、ほぼ全ての抑制性神経細胞は終脳腹側部にある大脳基底核原基で生まれた後、脳表面に対し水平に移動し、大脳皮質へと進入する事が知られている(図1)(Anderson et al., Science, 1997)。

しかし研究開始当初、図1のような大雑把な移動経路は明らかになっていないもの、一旦大脳皮質へと進入した細胞がどのような経路をどのような様式で移動し、最終目的地である皮質板(図2)にたどり着くのかは明らかになっていなかった。そこで

独自開発した抑制性神経細胞特異的可視化・タイムラプス観察法を用いて、大脳皮質内を移動する抑制性神経細胞には少なくとも5つの移動経路がある事を明らかにした(図2)(Tanaka et al., Development, 2003)。さらに生体内胎仔の大脳皮質の一部を脂溶性蛍



<図1> マウス前脳冠状面における大脳皮質抑制性神経細胞の移動経路



<図2> マウス大脳皮質内での抑制性神経細胞の移動経路

光色素で標識する方法により、少なくとも辺縁帯(MZ)の経路では、2-3mm という長距離にわたって大規模な移動が起こっている事を in vivo において明らかにした(Tanaka et al., Development, 2006)。さらにその後、より長時間の観察ができるように改良したタイムラプス観察法と緻密な定量解析法を組み合わせる事で、辺縁帯(MZ)の一部の移動細胞は

「さまよい運動」と命名した、これまでに報告のない全く新しい様式で移動している事を明らかにした(次ページ図3)(Tanaka et al., J. Neurosci., 2009)。以上のように我々はこれまで移動細胞の経路や移動様式を同定するための様々な観察・解析方法を開発・改良し、新規移動経路・様式を同定し続けてきた。

近年、ヒトの大脳皮質においては、マウスと同様に大脳基底核原基を起源とする抑制性神経細胞は全体の約35%にとどまり、残りの大部分は大脳皮質を起源とすることが明らかになった。このことは齧歯類からヒトに向かう進化の過程で、ヒトを含む真猿類には齧歯類等の下等な動物には存在しない独特な移動経路・様式が新たに生まれている可能性を示唆している。しかしこれまでのところ、真猿類大脳皮質における抑制性神経細胞の移動経路・様式は明らかになっていない。もし齧歯類にはない真猿類独特な移動過程を同定する事ができれば、その過程は真猿類で初めて達成された高度な神経機能の構築原理を理解する上で重要な知見となると考えられる。そこで我々はこれまで齧歯類における移動経路・様式の同定のために使用してきた観察系を適用する事で、真猿類における移動経路・様式の同定、およびその結果とこれまで定量解析してきた齧歯類での移動過程との比較により真猿類独特な移動過程の定量的同定ができると考えた。

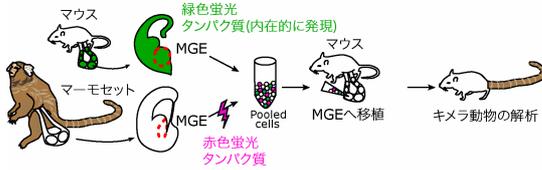
## 2. 研究の目的

そこで本研究では真猿類に属するコモンマーモセット大脳皮質における抑制性神経細胞の移動経路・様式を同定し、齧歯類から真猿類に至る進化の過程で生じた移動過程の変化の同定を目指す。具体的には、まず(1)発生に伴う抑制性神経細胞の分布変化をマーモセット固定標本を用いて免疫組織化学的に明らかにし、マウスの場合のそれと比較する。次に(2)マーモセットとマウスの移動細胞自身の違いを明らかにするために、マーモセットとマウスの細胞をマウス脳内に移植し、そこでの移動の様子を観察・比較する。

## 3. 研究の方法

(1)発生に伴う抑制性神経細胞の分布変化をマーモセット固定標本を用いて免疫組織化学的に明らかにするために、まず発生に伴う抑制性神経細胞の分布変化をマーモセット固定標本を用いて免疫組織化学的に明らかにするために、およそ胎生80日目と約90日目胎仔の固定標本作製し、抗GABA染色により抑制性神経細胞を可視化し、それらGABA陽性細胞の皮質内における分布や個々の細胞の形態を調べた。

次に(2)マーマセット細胞とマウス細胞の内在的な移動・分化特性の違いを理解するために、マーマセット MGE 細胞を赤色蛍光タンパク質でラベルし、緑色蛍光タンパク質でラベルしたマウス MGE 細胞とともに胎生 13.5 日目の子宮内マウス胎仔 MGE に移植した(図 3)。

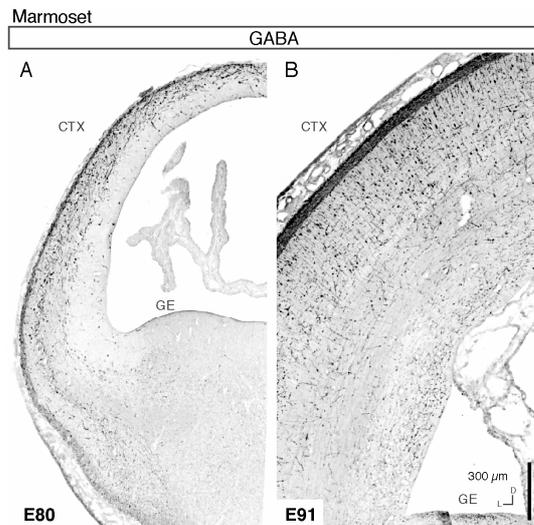


〈図 3〉 マウスとマーマセット胎仔 MGE 細胞のマウス MGE への子宮内移植

MGE の場所を同定するためには事前に固定標本を用いて Nkx2-1 染色を行った。マウス脳内での挙動の違いを検出するために移植後様々な時期で脳を固定し、切片を作製してラベルした細胞の分布や形態を解析した。

#### 4. 研究成果

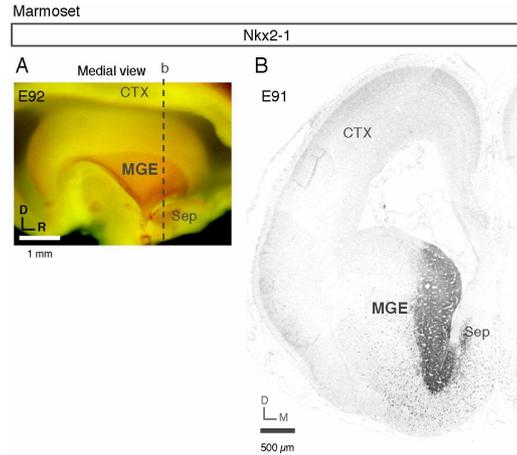
(1)GABA 陽性神経細胞はげっ歯類のそれと同様に、大脳皮質脳室下帯周辺を背側方向へと先導突起を伸ばしていることが明らかになった。また脳室下帯から皮質板へ向けて斜めおよび垂直に先導突起を伸ばしている細胞も観察された。さらに辺縁帯では背側方向のみならず、様々な方向へ突起を伸長している細胞が多数観察された(図 4)。



〈図 4〉 マーマセット胎生 80 日目 (A) と胎生 91 日目 (B) の大脳皮質内での GABA 抑制性神経細胞の分布

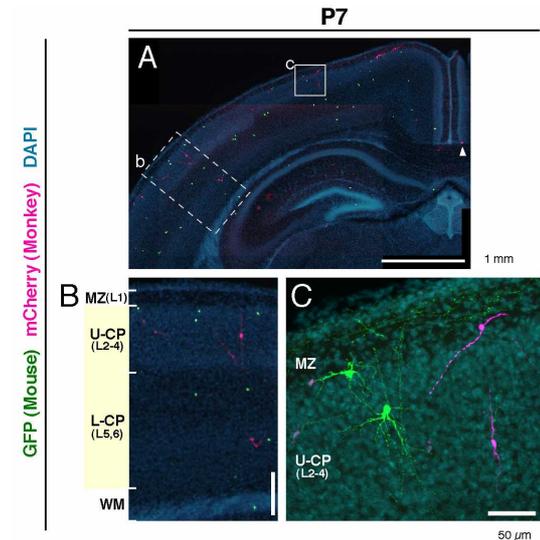
これらのことは、大脳皮質抑制性神経細胞の大脳皮質内での移動経路・様式はげっ歯類と真猿類でほぼ同じであり、哺乳類において共通して保存されている可能性を示唆している。

(2)まず MGE を同定するために Nkx2-1 染色を行った(図 5)。移植後の分布を調べた結果、マーマセット細胞はマウス細胞とほぼ同じ



〈図 5〉 マーマセット胎生 92 日目 (A) と胎生 91 日目 (B) の大脳基底核原基での Nkx2-1 の発現分布

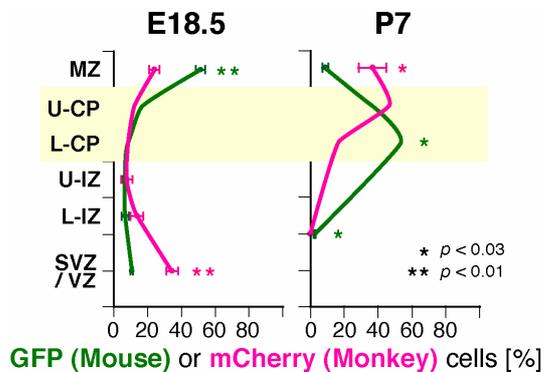
分布を示したことより、MGE 細胞の移動経路制御機構は哺乳類において共通して保存されていることが示唆された(図 6,7)。



〈図 6〉 マウス (緑色) とマーマセット (ピンク) 胎仔 MGE 細胞の、生後 7 日目マウス大脳皮質における分布 (A, B) と細胞の形態 (C)

また、生後 7 日目の時点でマウス抑制性神経細胞は大脳皮質内において多くの長い神経突起を伸ばしている一方で、マーマセット抑制性神経細胞は 1-2 本の短い神経突起を伸ばしている様子が観察された(図 6C)。これまでの知見との比較より、このマーマセット細胞の形態は移動中の神経細胞である可能性が極めて高い。この結果は霊長類の MGE 細胞はげっ歯類のそれに比べて内在的に移動を継続する特性が長期間にわたって維持されていることを示唆している。このことは大脳皮質が著しく肥大化したヒトを含む霊長類において、その発生期で移動細胞がどのようにして長距離移動を可能にしてきたのかを理

解する上で重要な示唆を与えていると思われる。今後、これらマーマセツ細胞の移動後の分化過程の解析を進めることで、ヒトを含む霊長類で特異的に発達した大脳皮質発生機構の理解に貢献できると考えている。



〈図7〉 マウス（緑色）とマーマセツ（ピンク）胎仔MGE細胞の、胎生18.5日目と生後7日目マウス大脳皮質における分布の定量解析

## 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）

〔学会発表〕（計2件）

- 1) Tanaka DH and Nakajima K. Migratory pathways of avian MGE-derived GABAergic interneurons in the mammalian neocortex: implications for the evolutionary adaptation in GABAergic interneuron migration, Construction and Reconstruction of the Brain. Awaji, Japan (Poster) (2009.9.16-18)
- 2) Tanaka DH and Nakajima K. Behavior of avian pallial GABAergic interneurons in the mammalian neocortex: implications for the evolutionary adaptation to the neocortex in pallial GABAergic interneurons, The 32th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society. Nagoya, Japan (Poster) (2009.10.7-10)

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

田中 大介 (TANAKA DAISUKE)

慶應義塾大学・医学部・助教  
研究者番号：90456921

(2) 研究分担者  
なし

(3) 連携研究者  
なし