

機関番号：23903

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20700337

研究課題名 (和文) 正常脳・傷害脳のニューロブラストの移動における Slit の機能の解析

研究課題名 (英文) The role of Slit in migration of new neurons in the adult brain under physiological and pathological conditions.

研究代表者

金子 奈穂子 (KANEKO NAOKO)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号：20464571

研究成果の概要 (和文)：成体脳の脳室下帯で産生された新生ニューロンは、非侵襲時には嗅球へ、また脳傷害時には傷害部に移動し成熟する。このとき新生ニューロンは、アストロサイトが密生した経路を高速で移動するが、その相互作用メカニズムは不明であった。我々は本研究で、成体脳を移動する新生ニューロンが分泌性タンパク質 Slit1 の発現により、移動経路に密生しているアストロサイトの形態・分布を制御し、自身の高速移動を可能にする移動経路の形成・維持を行っていることを明らかにした。この機構は、傷害部への新生ニューロンの移動にも関与していることが示唆された。

研究成果の概要 (英文)：New neurons are continuously generated in the mammalian subventricular zone, which migrate for a long distance through the meshwork of astrocytic processes toward the olfactory bulb. The molecular mechanism that regulates the interaction between the migrating neurons and surrounding astrocytes had been unknown. In this study, we demonstrated that the new neurons use a diffusible protein, Slit1, to dynamically control the morphology and arrangement of the astrocytes in the migratory route, which is required for their rapid and long-range migration in the adult brain. We also found that this neuron-astrocyte interaction is also involved in the migration of new neurons into the damaged area during neuronal regeneration processes after brain infarction.

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	390,000	1,690,000
2009 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2010 年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：神経科学・神経化学・神経薬理学

キーワード：発生・分化・老化

1. 研究開始当初の背景
成体脳でも、側脳室壁に存在する脳室下帯で

はニューロンの産生が行われている。ここで
産生された新生ニューロンは、細長い鎖状の

細胞集団を形成し、吻側移動経路(RMS:rostral migratory stream)を経て嗅球で介在ニューロンに分化する。RMS では新生ニューロンは特徴的な細長い鎖状の細胞集団を形成し、トンネル状に配列したアストロサイトの内部を高速で移動する。また新生ニューロンは脳損傷後には傷害部に向かって移動していくが、このときも活性化したアストロサイトの突起に沿った移動を行う。これらの特徴的な新生ニューロンの移動形態は、グリアや神経線維・樹状突起が発達した成体脳内での移動を可能にする、**発生期とは異なるメカニズムの存在**を示唆している。

Slit は、脳発生において細胞・軸索を忌避性に誘導することが知られている分泌性タンパク質であるが、成体において RMS を移動する新生ニューロン自身が Slit1 を発現していることが報告された。この発現パターンから、Slit1 が新生ニューロンの移動に関与しているのではないかと考えられたが、その機能については不明な点が多かった。

2. 研究の目的

新生ニューロンの脳室下帯-RMS-嗅球の移動、脳損傷後に観察される傷害部への移動について、Slit1 とその受容体 Robo の役割を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) Slit 受容体である Robo の RMS における発現パターンを免疫組織染色によって解析した。

(2) 新生ニューロンの移動における Slit1 の機能について、*Slit1* 遺伝子欠損 (*Slit1*^{-/-}) マウスやこの個体から単離した細胞の移植実験を用いて解析を行った。

(3) *Slit1*^{-/-}マウスを用いて脳梗塞モデルを作製し、脳損傷後の修復過程における Slit1

の役割を調べた。

(4) 新生ニューロンとその移動経路に存在するアストロサイトの相互作用における Slit1-Robo シグナルの機能について、脳室下帯-RMS から単離したアストロサイト・新生ニューロンの共培養実験を行い、これらの細胞の挙動についてタイムラプス撮影により解析した。

4. 研究成果

(1) RMS・傷害後の線条体における Slit1・Robo 受容体の発現

Robo1, Robo2, Robo3 特異的抗体を用いた脳切片の免疫染色により、RMS では Robo2・Robo3 が発現しており、特にトンネル構造を形成するアストロサイトの突起に局在がみられた。他方、線条体や大脳皮質のアストロサイトには Robo は検出されなかったが、脳梗塞モデル脳で傷害された線条体・大脳皮質に出現する活性化アストロサイトにおいては Robo2・Robo3 を強く発現していた。

(2) 新生ニューロンの移動における Slit1 の機能

Slit1^{-/-}マウスの RMS における新生ニューロンの移動を、スライス培養した脳スライスのタイムラプス撮影を行って野生型と比較した。*Slit1*^{-/-}脳では新生ニューロンの移動は不規則になり、移動速度が 40%ほど低下した。次に、野生型・*Slit1*^{-/-}マウスのスライスにそれぞれ *Slit1*^{-/-}マウス・野生型マウス脳室下帯から単離した新生ニューロンを移植し、これらの移動速度を比較したところ、*Slit1*^{-/-}新生ニューロンの野生型マウス脳における移動速度・野生型新生ニューロンの *Slit1*^{-/-}マウス脳における移動速度ともに野生型新生ニューロンの野生型マウス脳における移動速度に比して有意に低下していた。この結果から、Slit1 は新生ニューロンの移動にお

いて細胞自律的・非自律的な両側面に関与していることが示唆された。

(3) 脳修復過程における Slit1 の役割

脳梗塞モデルマウスでは、梗塞 2～3 週後に新生ニューロンが脳室下帯から梗塞巣へと移動する。*Slit1*^{-/-}マウスを用いて脳梗塞モデルを作製し、18 日後に傷害部である線条体に移動している新生ニューロン数を比較したところ、*Slit1*^{-/-}マウスではその数が減少していた。次に、移動している新生ニューロンとアストロサイトの相互関係を、免疫組織染色を行って詳細に解析した。野生型脳では、新生ニューロンは活性化アストロサイトの突起に沿うように梗塞巣へと移動するが、*Slit1*^{-/-}マウスでは新生ニューロンとアストロサイトが不規則に混在した異常な細胞塊を形成しており、新生ニューロン-活性化アストロサイト間の相互作用の障害が示唆された。

(4) アストロサイトとの相互作用における Slit1 の機能

脳室下帯-RMS から単離したアストロサイトと新生ニューロンの共培養実験を用いて、移動する新生ニューロンとこれらに接するアストロサイトの相互作用を解析した。この培養系で、新生ニューロンがアストロサイトに接して移動する際に、アストロサイト膜の形態を変化させることが分かった。この形態変化は Slit1 を欠損する新生ニューロンとの共培養や、アストロサイトの Robo シグナルを抑制した場合には有意に抑制された。またこれらの条件下では新生ニューロンの移動速度も低下していた。これらの結果から、新生ニューロンは Slit-Robo シグナルによってアストロサイトの形態を変化させ、自身の移動制御に関与していることが示唆された。

(5) 新生ニューロンによるアストロサイトのトンネル構造の維持

生体内でのアストロサイトの形態制御における新生ニューロンの役割を明らかにするため、増殖抑制剤を持続投与して新生ニューロンの産生を停止させてこの経路から新生ニューロンを除去し、周囲にトンネルを形成しているアストロサイトの形態を観察した。新生ニューロンが消失した RMS ではアストロサイトの規則的な配列や突起の伸長方向は著しく乱れた。しかし増殖抑制剤の投与を中止して新生ニューロンの産生を再開させると、アストロサイトのトンネル構造も回復した。よって、生体組織においても RMS のアストロサイトは経路内を移動する新生ニューロンによって形態や配列を制御されていることが示された。

以上より、成体内を長距離移動する新生ニューロンは、Slit を介するアストロサイトとの相互作用により、自身の移動経路の形成・維持に積極的に関与している可能性が示唆された。この機構は、アストロサイトが増生した傷害組織におけるニューロン再生過程においては更に重要であると考えられる。

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 17 件)

- ① Kaneko N, Marín O, Koike M, Hirota Y, Uchiyama Y, Wu J, Lu Q, Tessier-Lavigne M, Alvarez-Buylla A, Okano H, Rubenstein J, Sawamoto K.

New neurons clear the path of astrocytic processes for their rapid migration in the adult brain.

Neuron 67: 212-223, 2010

査読有

- ② Oki K, Kaneko N, Kanki H, Imai T, Suzuki

N, Sawamoto K, Okano H.
Musashil as a marker of reactive
astrocytes after transient focal brain
ischemia.

Neuroscience Research, 66: 390-395,
2010

査読有

③ Kaneko N, Sawamoto K.

Adult neurogenesis and its alteration
under pathological conditions.

Neuroscience Research, 63: 155-164,
2009

査読有

[学会発表] (計 20 件)

① 金子奈穂子

「アストロサイトとの相互作用による新生
ニューロン移動経路の形成・維持機構」
第9回成体脳のニューロン新生懇談会,
2010. 11. 27, 東京医科大学 (招待講演), 東
京都

② 金子奈穂子

「精神疾患と神経幹細胞の機能」
星薬科大学認定薬剤師研修制度講演会シリ
ーズ第2回講座・科学的根拠に基づくファ
ーマシューティカルケアの実践を目指し
て, 2010. 8. 22, 星薬科大学 (招待講演), 東
京都

- ③ Naoko Kaneko, Oscar Marín, Masato
Koike, Yuki Hirota, Yasuo Uchiyama, Jane
Y Wu, Qiang Lu, Marc Tessier-Lavigne,
Arturo Alvarez-Buylla, Hideyuki Okano,
John L. R. Rubenstein, Kazunobu Sawamoto
Dynamic interaction of migrating neurons
with glial cells in adult brain.
第9回 日本再生医療学会総会, 2010. 03. 18,
国際会議場 (第2回日本再生医療学会
Young Investigator's Award 受賞者講演),

広島県

[図書] (計 1 件)

- ① Sawada M, Shi-hui Huang, Yuki Hirota,
Kaneko N, Sawamoto K.

Neuronal migration in the adult brain.

Neurogenesis in the adult brain,

Springer, in press

6. 研究組織

(1) 研究代表者

金子 奈穂子 (KANEKO NAOKO)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号: 20464571