

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 4 月 15 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22590055

研究課題名（和文） 大脳皮質構築過程における MDGA ファミリー因子群の役割

研究課題名（英文） Functional analysis of MDGA family proteins on corticogenesis.

研究代表者

山本 融（YAMAMOTO TOHRU）

北海道大学・大学院薬学研究院・准教授

研究者番号：10251480

研究成果の概要（和文）：MDGA ファミリータンパク質は MDGA1, MDGA2 の 2 種類からなるイムノグロブリンスーパーファミリーに属する GPI アンカー型の細胞外タンパク質である。これらは中枢神経系において特徴的な発現様式を示し、なかでも MDGA1 はマウス大脳皮質においては II/III 層選択的に発現する。MDGA1 および MDGA2 欠失マウスをそれぞれ作製し、その大脳皮質構築過程における役割を解析したところ、MDGA ファミリー因子群は、これらを発現する神経群において、その皮質板内における正常な放射状移動に必要であることが明らかとなった。また、欠失マウスの表現形と、脳梁交連神経群の一部サブタイプの皮質板内での移動様式から、皮質板内における放射状移動には多様性があることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：MDGA1 encodes a GPI-anchored IgSF molecule containing MAM domain, which we isolated as a gene expressed by a specific subset of spinal and DRG neurons. In mouse cerebral cortex, MDGA1 is selectively expressed by neurons located in the upper layer. To investigate the function of MDGA1 and MDGA2, the other family member of MDGA1, in corticogenesis, we generated the MDGA1 and MDGA2 deficient mice. The migration of MDGA1/2-mutant neurons to the superficial cortical plate was clearly delayed, indicating that MDGA family proteins are involved in radial migration of projection neurons. The results also indicated that MDGA1 was expressed by and required for a subset of upper layer neurons for their proper migration. These observations suggested that radial migration of upper layer neurons in the cortical plate might be differentially regulated among cell types.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2011 年度	800,000	240,000	1,040,000
2012 年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：神経科学

科研費の分科・細目：薬学・生物系薬学

キーワード：大脳皮質 細胞移動 発生分化 神経細胞 組織構築

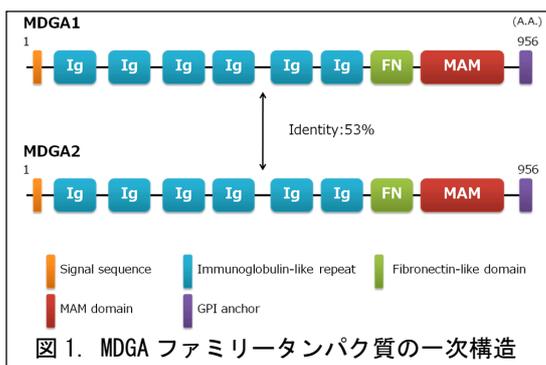
1. 研究開始当初の背景

ほ乳類の脳皮質は、分子層・外顆粒層・外錐体細胞層・内顆粒層・内錐体細胞層・多型細胞層の6つの層により構成されており、この層構造は、一見複雑な、しかし、実は美しく均整の取れた脳皮質の神経組織構築を代表する構造のひとつである。脳皮質の層形成に関しては、脳室周囲の脳室帯より生まれた神経細胞が、放射状に移動し、あとから生じた神経細胞が先に生まれた神経細胞の上に順序よく積み重なっていくことにより構成される、という構築システムの基本が既に明らかになっており、放射状移動の制御に関与する *Reelin* などの細胞外因子の同定とこれら神経群の細胞移動メカニズムの解析が進んでいる。しかしながら、同じ「層」の中に位置する神経細胞も、詳細に見れば、投射先などの機能が異なる種類の神経群により構成されており、それぞれ機能別に特定の位置を占めることで、定まった入力部位からの投射を効率よく受容するようになっている。果たして、これら機能の異なる神経群の細胞移動は、全てこうした同じメカニズムと制御の下になされているのだろうか？

研究代表者は、神経回路網の形成と維持の分子機構に関心を持ち、中枢神経系の発達過程で選択的に現れる新規因子群を探索・単離し、その解析を進めてきた。こうして単離した因子の一つ *MDGA1* は、イムノグロブリンスーパーファミリーに属する GPI アンカー型の膜タンパク質であり、これまでの研究代表者の解析から、マウス脳皮質の II/III 層をはじめとする特定の領域に発現することなどを明らかにしていた。こうしたことから、*MDGA1* は脳皮質の構築過程において何らかの役割を有していることが考えられたため、研究開始時点で作出が完了していた *MDGA1* 遺伝子欠失マウスを解析することで、その役割を明らかにしようと考えた。

2. 研究の目的

MDGA1 欠失マウスの表現形を調べ、その



脳皮質構築過程における役割を解析する。また、*MDGA1* のファミリー分子である *MDGA2* 欠失マウスを作製し、*MDGA1* 欠失マウスとあわせて解析することで、*MDGA* ファミリーの機能を明らかにする。

3. 研究の方法

バッククロスを進めコンジェニック化した *MDGA1* 欠失マウスを用い、ノックインした *LacZ* 遺伝子の発現を指標に *MDGA1* を発現していた神経細胞の挙動を解析した。また、*MDGA1* のファミリー分子である *MDGA2* 欠失マウスの作製をおこない、その表現形を解析した。

4. 研究成果

MDGA ファミリー分子の一次構造の概略を図 1 に示す。*MDGA1* 欠失マウスはおよそメンデル比に準じた割合で誕生し、その成長・繁殖には顕著な異常は認められなかった。また、成体の脳の構造にも明らかな異常は認められなかった。そこで、脳皮質の形成過程における *MDGA1* 陽性細胞の振る舞いを解析した。その結果、*MDGA1* の欠失により、これを発現していた神経群の皮質板内における放射状移動に遅れが生じることが明らかとなった (図 2)。これにより、*MDGA1* は、これを発現する神経において、その正常な放射状移動に必要であることが明らかとなった。このとき、興味深いことに、上層へ移動する神経群に認められる *Cux2* を発現する細胞群の移動パターンに顕著な差は観察されなかった (図 2)。このことは、*MDGA1* を発現する神経は上層へ放射状移動をおこ

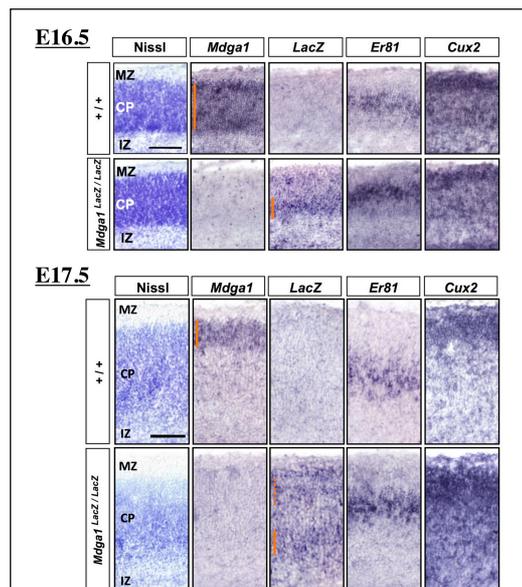
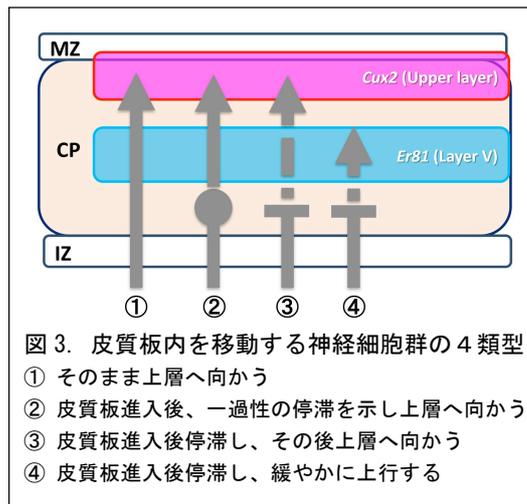


図 2. 野生型および *MDGA1* 欠失マウスにおける *MDGA1* 陽性細胞の皮質板内における位置



なう神経群の一部であることを示すとともに、放射状移動をおこなう神経群に MDGA1 の発現を必要とするものと必要としないものの少なくとも 2 種類が存在することを示唆しており、画一的に見える放射状移動も細胞種によって異なった制御がなされていることが考えられた。これまで、大脳皮質形成時における興奮性神経の放射状移動について、これを細胞種選択的に制御する機構があることは知られておらず、この結果は、放射状移動に多様性が存することを示唆する初めての知見である。そこで、このような多様性が確かに存在するのか、脳梁交連神経のサブタイプ選択的に発現する遺伝子群を指標に、野生型マウスにおいて、将来機能の異なる神経となる細胞間において、その放射状移動の態様に差異が認められるかを検証した。その結果、これら細胞群の皮質板内における挙動には差異が認められ、6 層に存在が仮定される抑制シグナルに対する感受性の有無と強弱によって 4 種の類型に分類されることが明らかとなった (図 3)。これらのことから、大脳皮質構築時における皮質板内の放射状移動には多様性が存することが示唆された。また、MDGA2 の遺伝子欠失マウスの作製に成功し、その表現形を解析した。MDGA2 欠失マウスは誕生するものの、その比率はメンデル比から予測されるものよりやや少なく、その後の生育も悪かった。体重は同腹仔より有意に軽く、その差は月令を経ても縮小されなかった。なお、大脳皮質の構築には大きな異常は認められなかった。MDGA2 欠失マウス胚において MDGA1 発現細胞の放射状移動を解析したところ、その皮質板内での放射状移動の開始時において遅れが観察された。こうしたことから、MDGA ファミリー因子群は大脳皮質形成時において、放射状移動を正常に行わせる機能を有していることが改めて確認されるとともに、MDGA2 は誕生後の正常な生育に関わるシ

テムに与っていることが推察された。

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 10 件 ; 全て査読有り)

1. Piao Y, Kimura A, Urano S, Saito Y, Taru H, Yamamoto T, Hata S, Suzuki T. Mechanism of Intracellular Cleavage of Alcadeins by γ -Secretases. *PLoS One* 8, 2013, e62431.
2. Maruta C, Saito Y, Hata S, Gotoh N, Suzuki T, Yamamoto T. Constitutive cleavage of the single-pass transmembrane protein Alcadein α prevents aberrant peripheral retention of Kinesin-1. *PLoS One* 7, 2012, e43058.
3. Matsushima T, Saito Y, Elliott JJ, Iijima-Ando K, Nishimura M, Kimura N, Hata S, Yamamoto T, Nakaya T, Suzuki T. Membrane-microdomain localization of amyloid β -precursor protein (APP) C-terminal fragments is regulated by phosphorylation of the cytoplasmic Thr668 residue. *J. Biol. Chem.* 287, 2012, 19715-19724.
4. Kawano T, Araseki M, Araki Y, Kinjo M, Yamamoto T, Suzuki T. A small peptide sequence is sufficient for initiating kinesin-1 activation through part of TPR region of KLC1. *Traffic* 13, 2012, 834-848.
5. Konno T, Hata S, Hamada Y, Horikoshi-Sakuraba Y, Nakaya T, Saito Y, Yamamoto T, Yamamoto T, Maeda M, Ikeuchi T, Gandy S, Akatsu H, Suzuki T. Coordinated increase of γ -secretase reaction products in the plasma of some female Japanese sporadic Alzheimer's disease patients: quantitative analysis of p3-A β with a new ELISA system. *Mol. Neurodegener.* 6, 2011, 76.
6. Saito Y, Akiyama M, Araki Y, Sumioka A, Shiono M, Taru H, Nakaya T, Yamamoto T, Suzuki T. Intracellular trafficking of the amyloid β -protein precursor (APP) regulated by novel function of X11-like. *PLoS One* 6, 2011, e22108.
7. Hata S (他 22 名 21 番目) Alternative processing of γ -secretase substrates in common forms of mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: evidence for γ -secretase

- dysfunction. *Ann. Neurol.* 69, 2011, 1026-1031.
8. Nakazawa S, Gotoh N, Matsumoto H, Murayama C, Suzuki T, Yamamoto T. Expression of sorting nexin 18 (SNX18) is dynamically regulated in developing spinal motor neurons. *J. Histochem. Cytochem.* 59, 2011, 202-213.
 9. Ishikawa T, Gotoh N, Murayama C, Abe T, Iwashita M, Matsuzaki F, Suzuki T, Yamamoto T. IgSF molecule MDGA1 is involved in radial migration and positioning of a subset of cortical upper layer neurons. *Dev. Dyn.* 240, 2011, 96-107.
 10. Kondo M, Shiono M, Itoh G, Takei N, Matsushima T, Maeda M, Taru H, Hata S, Yamamoto T, Saito Y, Suzuki T. Increased amyloidogenic processing of transgenic human APP in X11-like deficient mouse brain. *Mol. Neurodegener.* 2010, 5, 35.

[学会発表] (計 23 件)

1. 山本融, 脊髄上行性伝導路の形成機構, 第118回日本解剖学会総会・全国学術集会, 2013年3月28日-30日 サンポートホール高松・かがわ国際会議場.
2. 尾嶋大喜, 大脳新皮質構築時における皮質板内放射状移動の多様性の検討, 第118回日本解剖学会総会・全国学術集会, 2013年3月28日-30日 サンポートホール高松・かがわ国際会議場.
3. 白木柚葉, Alcadeinによるkinesin-1活性と膜小胞輸送制御機構, 第85回日本生化学会大会, 2012年12月14日-16日, 福岡国際会議場・マリンメッセ福岡.
4. Suzuki T, Translocation of APP cytoplasmic fragment regulated by phosphorylation of Thr668 residue. Society for Neuroscience annual meeting, October 13-17, 2012, New Orleans Ernest N. Morial Convention Center, New Orleans, USA.
5. Imai A, Identification of molecules involved in ascending spinal tract formation in developing chick. Society for Neuroscience annual meeting, October 13-17, 2012, New Orleans Ernest N. Morial Convention Center, New Orleans, USA.
6. Yamamoto T, Constitutive cleavage of a single pass transmembrane protein Alcadein α prevents aberrant peripheral retention of kinesin-1. Society for Neuroscience annual meeting, October 13-17, 2012, New Orleans Ernest N. Morial Convention Center, New Orleans, USA.
7. 尾嶋大喜, 大脳新皮質神経細胞の皮質板内における放射状移動の細胞種による多様性の検討, 第35回日本神経科学大会, 2012年9月18日-21日 名古屋国際会議場.
8. 今井徳俊, 脊髄上行性伝導路を構成する神経群とその形成に関する因子群の同定, 第35回日本神経科学大会, 2012年9月18日-21日 名古屋国際会議場.
9. 渡辺彩乃, ニワトリ胚脊髄上行性伝導路形成に関する軸索ガイダンス因子の同定, 第117回日本解剖学会総会・全国学術集会 2012年3月26日-28日 山梨大学.
10. 山本融, WDモチーフはキネシン1モーター活性化の開始に十分であり、その際キネシン軽鎖TPR領域のすべては必要とされない, 第34回日本分子生物学会年会, 2011年12月13-16日 パシフィコ横浜.
11. Araseki M, Molecular mechanism of kinesin-1 activation by Alcadein α . The American Society for Cell Biology Annual Meeting, December 3-7 2011, Colorado Convention Center, Denver USA.
12. Murayama C, Effect of IgSF molecule MDGA1 on axonal fasciculation. Society for Neuroscience annual meeting, November 12-16 2011, Walter E. Washington Convention Center, Washington DC, USA.
13. Yamamoto T, Enhanced amyloidogenic processing of APP in Alcadein α -deficient mice. Society for Neuroscience annual meeting, November 12-16 2011, Walter E. Washington Convention Center, Washington DC, USA.
14. 山本融, Alcadein α の欠失によりAPPのアミロイド産生的代謝は亢進する, 第34回日本神経科学大会, 2011年9月14日-17日, パシフィコ横浜
15. 山本融, からだと脳はどのように結ばれるか - 脊髄上行路形成機構の解析, 日本生理学会・日本解剖学会合同年会, 2011年3月28日-30日, パシフィコ横浜
16. Gotoh N, Intracellular Dynamics of a Kinesin-1 Cargo, Alcadein, The American Society for Cell Biology, Annual Meeting, Dec. 11-15, 2010, Pennsylvania Convention Center, Philadelphia USA
17. Suzuki T, Alcadein as a Kinesin-1 Cargo Receptor with Motor Regulation,

- The American Society for Cell Biology, Annual Meeting, Dec.11-15, 2010, Pennsylvania Convention Center, Philadelphia USA
18. Arakawa T, Ascending spinal tract formation in developing chick, Society for Neuroscience annual meeting, Nov.13-17 2010, San Diego Convention Center, San Diego USA
 19. Yamamoto T, IgSF molecule MDGA1 is involved in radial migration and positioning of a subset of cortical upper-layer neurons, Society for Neuroscience annual meeting, Nov.13-17 2010, San Diego Convention Center, San Diego USA
 20. Kato T, Ascending spinal tract formation in developing chick, Neuro 2010, 2010年9月2-4日, 神戸国際会議場
 21. Yamamoto T, Novel IgSF molecule MDGA1 is involved in radial migration and positioning of a subset of cortical upper-layer neurons, Neuro 2010, 2010年9月2-4日, 神戸国際会議場
 22. Konno, T, Increased p3-Alca, a g-secretase reaction product of Alcadein, in plasma of sporadic Alzheimer's disease subjects, ICAD2010, Jul.10-15 2010, Hawaii Convention Center, Honolulu USA
 23. Piao, Y, Expression and localization of Alcadein along with X11L and APP in mouse brain, ICAD2010, Jul.10-15 2010, Hawaii Convention Center, Honolulu USA

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山本 融 (YAMAMOTO TOHRU)
北海道大学・大学院薬学研究院・准教授
研究者番号：10251480

(2) 研究分担者 なし

(3) 連携研究者 なし