

平成30年6月14日現在

機関番号：82609

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26440129

研究課題名(和文) 大脳皮質形成過程における神経細胞移動制御の分子メカニズム

研究課題名(英文) Molecular mechanisms of neuronal migration during corticogenesis

研究代表者

丸山 千秋 (OHTAKA-MARUYAMA, Chiaki)

公益財団法人東京都医学総合研究所・脳発達・神経再生研究分野・副参事研究員

研究者番号：00281626

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：大脳新皮質は哺乳類にのみ存在し、認知、学習、言語機能等の高次脳機能を司る。胎児期に脳ができる際、脳室帯で生まれたニューロンは次々と脳表へ向かって移動し、多数のニューロンが精緻に配置された6層構造が出来上がる。この制御メカニズムについては不明な点も多かった。本研究ではこの制御機構の新たなメカニズムを発見した。サブプレートニューロンは皮質で最初に生まれ成熟するニューロンであるが、このニューロンが胎生中期でも活発に神経活動を行っており、幼若な多極性ニューロンに対してシナプスを介してグルタミン酸シグナルを送ることで細胞形態とより速い移動モードへの変換を促すことが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：Neocortex is developed only in mammals and contributes to the higher order brain functions such as cognition, learning and speaking. During corticogenesis, the newborn neurons migrate one after another from the ventricular zone toward the pial surface and the six-layer structure that billions of neurons are arranged elaborately. The regulatory mechanisms of this process remain elusive. In this study, we found a novel mechanism of subplate neurons in this regulation. The subplate neurons are among the first born and matured neurons in the cortex. We revealed that the subplate neurons sent glutamate signals to multipolar neurons via synaptic transmission and promoted the morphological change of multipolar neurons into bipolar shape and lead to the faster migration mode called locomotion.

研究分野：神経発生学

キーワード：サブプレート 大脳皮質 放射状神経細胞移動 放射状神経細胞移動 多極性-双極性変換 脳進化

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19(共通)

1. 研究開始当初の背景

高度な認知、学習、言語機能等の脳機能及び精神活動は、ヒトが進化の過程で獲得した極めて特異的な生物学的特徴である。大脳新皮質はこうした高度な脳機能活動の基盤となる脳部位であり、ヒトを含めた哺乳類に独特の解剖学的構造である。しかしながら、どのような発生学的機構が哺乳類独特の大脳皮質構造の進化に寄与したのかは未だ明らかとなっていない。

2. 研究の目的

大脳皮質形成期において、3種類の細胞構造体が脳形成の際の“足場”の様な役割を果たした後、脳が出来上がると消失することが知られている。カハールレチウス (CR) 細胞、放射状グリア線維、そしてサブプレートニューロン (SpN) である。CR 細胞はリーリンを分泌して神経細胞移動の最終段階の制御に関わり、放射状グリア線維は幼若ニューロンが脳表に向かって登っていく際の間を提供している。しかしながら、SpN の役割についてはこれまで不明な点が多かった(図1)。本研究は、最初期に誕生、成熟し、生後は消失する一過的な SpN の脳形成期における機能解析を通して大脳新皮質構築原理の理解とその進化のメカニズムを探ることを目的とする。

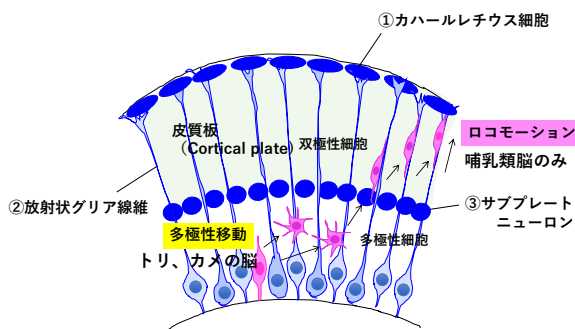


図1 脳形成期における足場となる細胞構造

3. 研究の方法

SpN の神経細胞移動制御における役割を解析するために、まず、SpN が GFP 陽性である Lpar1-EGFP トランスジェニックマウスを用いて移動ニューロンとの相互作用を調べた。移動ニューロンは胎生 14 日目に RFP プラスミドを子宮内エレクトロポレーションすることでラベルし、2色タイムラプスイメージングを行なった。また、電子顕微鏡観察により SpN と移動ニューロンの接触部位を観察した。次に SpN の神経活動をモニターし、そ

の活性を阻害した際に移動にどのような影響が出るのかを解析した。さらには移動ニューロンに GCaMP を導入して移動に伴うカルシウムイメージングを行なった。最後に多極性細胞の周りのグルタミン酸濃度を局所的に上げた際、細胞のふるまいにどのような影響があるのかについて、グルタミン酸アンケーシング試薬を用いて解析した。

4. 研究成果

まず、SpN のイメージング観察により、SpN は盛んに軸索様の突起を脳室側に向かって伸ばし、それらの突起と移動ニューロンが接触していることがわかった。そこで、この接触部位を電子顕微鏡で詳細に観察したところ、驚いたことに、通常幼若ニューロンでは見られないと思われていたシナプス構造が見つかった。GCaMP を用いたカルシウムイメージングでは、SpN は胎生中期において盛んに神経活動を行なっていることが示唆された。また、シナプス伝達の際に起こる小胞放出もあるのかどうかについて、シナプトフィジンフルオリン (Syp-pHlu) を SpN に導入してイメージングを行なったところ、フルオリンシグナルがサブプレート直下の領域に観察されたことから、SpN は小胞放出を伴って神経活動をしていることが示唆された。そこで、この神経活動を阻害してみると、移動ニューロンのロコモーションへの変換が障害された。また早めに多極性細胞周囲のグルタミン酸濃度を上げると、逆にロコモーションへの変換は促進されることがわかった。これらの結果から、SpN はその後次々と生まれる神経細胞と一過性のシナプスを形成し、その最終目的地への移動を促す信号を送っていることが明らかになった(図2)。

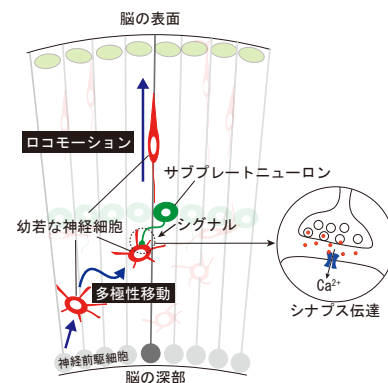


図2 本研究結果のまとめ

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 5 件)

1. Ohtaka-Maruyama C, Okamoto M, Endo K, Oshima M, Kaneko N, Yura K, Okado H, Miyata T, Maeda N., Synaptic transmission from subplate neurons controls radial migration of neocortical neurons. *Science* (in press)
2. Ohtaka-Maruyama C, Nakajima K, Pierani A, Maeda N., Editorial: Mechanisms of neuronal migration during corticogenesis. *Front Neurosci.*, **10**:172 (2016) doi: 10.3389/fnins.2016.00172. eCollection 2016 (査読あり)
3. Nomura T, Ohtaka-Maruyama C, Yamashita Y, Wakamatsu Y, Murakami Y, Calegari F, Suzuki K, Gotoh H, Ono K., Evolution of basal progenitors in the developing non-mammalian brains. *Development.*, **143**:66-74 (2016) doi: 10.1242/dev.127100. (査読あり)
4. Ohtaka-Maruyama C and Okado H., Molecular pathways underlying projection neuron production and migration during cerebral cortical development. *Front Neurosci.*, **9**:447 (2015) doi: 10.3389/fnins.2015.00447. eCollection 2015. (査読あり)
5. Heng J I, Zhengdong Qu†, Ohtaka-Maruyama C† Okado H, Kasai M, Castro D, Guillemot F, Tan S S., The zinc finger factor RP58 negatively regulates the control of neuronal migration during cortical development. *Cerebral Cortex.*, **25**, 806-816 (2015) †Equal contribution doi: 10.1093/cercor/bht277. Epub 2013 Oct 1. (査読あり)

[学会発表] (計 14 件)

1. 丸山千秋、岡本麻友美、金子乃愛、大島実莉、由良敬、宮田卓樹、前田信明「発生期大脳皮質のサブプレートニューロンは多極性細胞との一過的なシナプス形成を介してロコモーションモードへの移行を促進する」第 40 回日本分子生物学会 2017 年 12 月 7 日 (神戸市、ポートアイランド)
2. 金子乃愛、丸山千秋、大島実莉、由良敬、前田信明「細胞外基質プロテアーゼによる放射状神経細胞移動制御」第 40

回日本分子生物学会 2017 年 12 月 7 日 (神戸市、ポートアイランド)

3. Ohtaka-Maruyama C, Kaneko N, Oshima M, Yura K, Maeda N「ECM remodeling in the neocortex during radial migration of excitatory neurons」第 40 回日本神経科学大会 2017 年 7 月 21 日 (千葉市、幕張メッセ)
4. 丸山千秋、大島実莉、由良敬、前田信明「発生期大脳皮質における新生興奮性ニューロンの移動と細胞外基質制御」第 10 回神経発生討論会 2017 年 3 月 10 日-11 日 (仙台市、秋保ホテルクレセント)
5. 丸山千秋、大島実莉、由良敬、前田信明「発生期大脳皮質における新生興奮性ニューロンの移動と細胞外基質制御」第 39 回日本分子生物学会年会 2016 年 12 月 1 日 (横浜市、パシフィコ横浜)
6. 丸山千秋「哺乳類大脳新皮質の進化における新しい細胞移動モードの獲得とサブプレート層の役割」2016 分子生物学会フォーラム『多様な神経細胞を生み出す複雑・難解な神経分化システムの理解』2016 年 12 月 1 日 (横浜市、パシフィコ横浜)
7. 渡部千里、丸山千秋、鈴木真理子、岩井亮太、山西恵美子、山本渉子、依馬正次、水谷健一「発生期大脳皮質における血管発生の規則性とその生理機能の役割」第 39 回日本分子生物学会年会 2016 年 12 月 1 日 (横浜市、パシフィコ横浜)
8. Ohtaka-Maruyama C, Oshima M, Yura K, Maeda N「Gene expression profiling of migrating excitatory neurons during mouse neocortical development」第 39 回日本神経科学大会 2016 年 7 月 21 日 (横浜市、パシフィコ横浜)
9. 大島実莉、丸山千秋、由良敬、前田信明「マウス胎仔大脳新皮質の放射状移動神経細胞における遺伝子発現の網羅的解析」第 9 回神経発生討論会・難治疾患共同研究拠点共同開催学術集会 2016 年 3 月 18 日 (文京区、東京医科歯科大学)
10. Ohtaka-Maruyama C, Okamoto M, Okado H, Miyata H, Maeda N「The functional roles of subplate neurons in the radial migration of newborn neurons in the developing mouse neocortex」The 8th Annual Meeting for Japanese Developmental Neuroscientists 第 8 回神経発生討論会 2015 年 3 月 19 日 (福岡市、九州大学)

11. 丸山千秋、岡本麻友美、岡戸晴生、宮田卓樹、前田信明 「発生期サブプレートニューロンの神経活動は新生ニューロンの放射状移動に重要な役割をしている」
Neuronal activity of subplate neurons of the developing neocortex is crucial for the radial migration of late-born neurons 第37回日本分子生物学会大 2014年11月25日（横浜市、パシフィコ横浜）
12. 丸山千秋、岡本麻友美、岡戸晴生、宮田卓樹、前田信明 「The subplate layer plays critical roles in the radial neuronal migration in the developing mouse neocortex」 第37回日本神経科学学会大会 2014年9月12日（横浜市、パシフィコ横浜）
13. Ohtaka-Maruyama C, Okamoto M, Okado H, Maeda N 「The subplate layer of the developing neocortex plays crucial roles in the radial neuronal migration」 Gordon Research Conference “Neural Development” 2014年8月12日 (Salve Regina University, Newport, RI, USA)
14. Ohtaka-Maruyama C, Okamoto M, Okado H, Maeda N 「The roles of subplate layer in the radial migration of newborn neurons in the developing Neocortex.」 International meeting 「Cortical Development」 2014年5月23日 (Chania, Crete, Greece)

〔図書〕(計1件)

1. MECHANISMS OF NEURONAL MIGRATION DURING CORTICOGENESIS
Edited by Ohtaka-Maruyama C, Nakajima K, Pierani A and Maeda N
Frontiers in Neuroscience Research Topic
Ebook (July, 2016)
Frontiers

〔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.igakuken.or.jp/regeneratio/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

丸山 千秋 (OHTAKA-MARUYAMA, Chiaki)
公益財団法人東京都医学総合研究所
脳発達・神経再生研究分野・副参事研究員