

第4回神経発生討論会プログラム

3月19日（金）

12:20 から受付とポスター貼り

12:55 挨拶と発表のルール説明

座長：味岡逸樹（東京医科歯科大学）（口演 1-3）

13:05-13:25 口演 1 Notch シグナルによる神経不皮細胞の極性とアピカル面に限局した細胞分裂の協調的制御。 大畑慎也 (理化学研究所脳科学総合研究所発生遺伝子制御研究チーム 研究員)

13:25-13:45 口演 2 成体神経幹細胞における purinergic signaling の役割。 陶山智史 (慶應義塾大学大学院医学研究科医科学専攻生理学教室 大学院生)

13:45-14:05 口演 3 細胞周期調節因子 Cyclin D2 mRNA の時空間的転写後調節は神経不皮細胞の分裂後運命を非対称に決定し、哺乳類の皮質形成に重要かもしれない。 恒川雄二 (東北大学医学系研究科形態形成解析分野 D4)

14:05-15:00 ポスター説明（奇数）

座長：須藤文和（東北大学）（口演 4-6）

15:00-15:20 口演 4 Foxg1 による大脳皮質ニューロンの経時的分化能の調節機構。 隈元拓馬 (理化学研究所 発生・再生科学総合センター 大脳皮質発生研究チーム 研究員)

15:20-15:40 口演 5 Rett 症候群原因遺伝子産物 MeCP2 の機能解析。 辻村啓太 (奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス研究科 分子神経分化制御学講座 博士後期課程 3 年)

15:40-16:00 口演 6 転写抑制因子 RP58 の astrocytogenesis への関与。 平井志伸 (東京都神経科学総合研究所分子神経生理 博士課程 3 年)

16:00-16:55 ポスター説明（偶数）

座長：小曾戸陽一（理化学研究所）（口演 7-10）

16:55-17:15 口演 7 MicroRNA-124a をコードする網膜の蛋白質非コード RNA Rncr3 の機能解析。 佐貫理佳子 (大阪バイオサイエンス研究所 第 4 研究部、京都大学大学院医学研究科 分子発生学部門 学生)

17:15-17:35 口演 8 神経核形成過程における細胞移動様式の解明－橋核をモデルとした解析－。 篠原正樹 (大阪大学生命機能研究科 一貫性博士課程 4 年)

17:35-17:55 口演 9 大脳皮質錐体細胞における軸索ガイダンス分子 Roundabout1 (Robo1) の役割。 権田裕子 (国立精神神経センター神経研究所代謝研究部 流動研究員)

17:55-18:15 口演 10 COUP-TFII 発現領域に由来する大脳皮質抑制性神経細胞の解析。 金谷繁明 (慶應義塾大学医学部解剖学教室 特別研究助教)

18:15-18:30 二日目の口演予定者による自己紹介（1 分 x 11 人）

18:30- 懇親会 と ポスター続き（ルール無し）

3 月 20 日（土）

座長：榊原明（名古屋大学）（口演 11-13）

8:50-9:10 口演 11 神経系前駆細胞におけるクロマチン状態の変化。 藤井佑紀 (東京大学 分子細胞生物学研究所情報伝達分野 修士 2 年)

9:10-9:30 口演 12 Early-Arriving Olfactory Axons Deliver Sema3F to the Olfactory Bulb to Repel Late-Arriving Nrp2+ Axons. 井ノ口霞 (東京大学理学系研究科生物化学専攻 博士課程 2 年)

9:30-9:50 口演 13 NT-3 の軸索誘導活性と作用機構の解明。 中牟田信一 (名古屋大学大学院 医学研究科 神経情報薬理学講座 博士課程 3 年)

9:50-10:40 ポスター説明 (1 ~ 20 番)

座長：謝敏かく (福井大学) (口演 14-16)

10:40-11:00 口演 14 小脳プルキンエ細胞の軸索維持における HuC の機能。 角元恭子 (慶應義塾大学医学部生理学教室 特別研究助教)

11:00-11:20 口演 15 感覚神経細胞が、軸索伸展の初期過程で神経成長因子に依存しないのはなぜか？ 青木誠 (理化学研究所脳科学総合研究センター発生遺伝子制御研究チーム リサーチアソシエート)

11:20-11:40 口演 16 Epigenetic control of cell-type specific response to the steroid hormone Ecdysone in Drosophila sensory neurons. 金森崇浩 (国立遺伝学研究所・神経形態 ポスドク)

11:40-12:30 ポスター説明 (21 ~ 41 番)

12:30-13:30 昼食とポスター続き, アンケート配布・記入

座長：増山典久 (国立精神・神経センター) (口演 17-19)

13:30-13:50 口演 17 個体発生過程における血管-神経パターンニング。 高瀬悠太 (奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス研究科 分子発生生物学講座 博士後期課程 1 年)

13:50-14:10 口演 18 プラナリアの行動解析システムを利用した脳再生と脳機能の解析。 山下大河 (京都大学大学院 理学研究科 生物科学専攻 生物物理学教室 分子発生学講座 修士課程 2 年)

14:10-14:30 口演 19 色素細胞の挙動とメラニン輸送の可視化：表皮培養法を用いたライブイメージング観察。 酒井謙一郎 (奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科分子生物学専攻分子発生生物学講座 博士課程前期 2 年)

14:30-14:40 休憩

座長：金丸和典（東京大学）（口演 20-21）

14:40-15:00 口演 20 Sbnol はマウス神経分化に必須な因子である。 高野愛 (神戸大学大学院医学研究科生理学細胞生物学講座神経発生分野 博士課程 3 年)

15:00-15:20 口演 21 発生期大脳皮質におけるロコモーション様式の神経細胞移動に関わる制御因子の解析。 西村嘉晃 (慶應義塾大学医学部解剖学教室 特別研究助教)

終わりの挨拶，来年度の予定案内など
解散（15:30）

ポスター発表

ポスター1、中心体構成タンパク質 Ninein は神経上皮細胞の interkinetic nuclear movement 制御に関与するかもしれない。篠原広志（東北大学大学院医学系研究科形態形成解析分野 助教）

ポスター2、小脳神経上皮における bHLH 型転写因子 Ptfla と Atoh1 の発現相互制御と機能解析。 山田真弓（国立精神・神経センター 神経研究所 診断研究部 大学院生）

ポスター3、The tripartite motif protein ASAP is a critical determinant in axonal patterning of Drosophila sensory neurons. 榎本和生（国立遺伝学研究所・神経形態研究室 准教授）

ポスター4、神経幹細胞/前駆細胞における細胞周期調節因子 cyclin D1 のアストロサイト分化抑制機構。 備前典久（東京医科歯科大学 難治疾患研究所 幹細胞制御分野 大学院 博士課程）

ポスター5、難治性てんかんと発達障害の原因遺伝子 CDKL5 の相互作用蛋白の探索。 奥田耕助（東京大学医学系研究科国際保健学専攻発達医科学教室 大学院修士1年）

ポスター6、Inositol 1,4,5-trisphosphate signaling in Schwann cells mediates the formation of myelin sheath. 稲生大輔（東京大学大学院医学系研究科 細胞分子薬理 大学院生 博士課程）

ポスター7、脳梗塞後の運動機能と学習機能における変化。 陳揚（東京大学大学院 新領域創成科学研究科 先端生命科学専攻 細胞応答化学分野 修士2年）

ポスター8、海馬回路活動による、神経新生の調節。 加藤智将（東京大学大学院 新領域創成科学研究科 先端生命科学専攻 細胞応答化学分野 久恒 辰博研究室 修士一年）

ポスター9、Effects of AChE inhibition on Hippocampal neurogenesis in aged AD transgenic mice. Bruno Herculano（東京大学大学院新領域創成科学研究科先端生命科学専攻細胞応答研究室 修士課程1年生）

ポスター10、海馬機能に関わる遺伝子のレンチウイルスベクターを用いた RNAi による解析。
木村康太（東京大学大学院新領域創成科学研究科先端生命科学専攻細胞応答化学研究室 修士
課程 1 年）

ポスター11、Response of adult hippocampal neural stem cells to glutamate. 成体海馬
神経幹細胞のグルタミン酸に対する応答性。 石鍋健太郎（東京大学大学院・新領域創成科学研
究科・先端生命科学専攻・細胞応答化学分野 修士学生）

ポスター12、生体マウス海馬における神経幹/前駆細胞の増殖、分化に関する研究。金子順（東
京大学大学院 新領域創成科学研究科 先端生命科学 細胞応答化学分野 修士 1 年）

ポスター13、アセチルコリンエステラーゼ阻害剤がアルツハイマー病モデルマウスの学習記憶
機能に及ぼす影響。 島谷真由（東京大学大学院新領域創成科学研究科先端生命科学専攻細胞応
答化学分野研究室 学生）

ポスター14、Time-lapse imaging analysis of caspase function during neural tube closure.
篠塚直美（東京大学大学院薬学系研究科遺伝学教室 大学院生）

ポスター15、ニューロンの成熟過程におけるグローバルなクロマチン状態の変化。岸雄介（東
京大学 分子細胞生物学的研究所 博士課程 3 年）

ポスター16、ショウジョウバエ未分化神経幹細胞の成熟には Notch/Delta 経路の細胞間シグナ
ルが関与する。 織原一小野美奈子（慶應義塾大学医学部生理学教室 助教）

ポスター17、A possible mechanism for post-transcriptional regulation in axon guidance.
桑子賢一郎（慶應義塾大学医学部生理学・ブリヂストン寄附講座 特別研究助教）

ポスター18、リン酸化による微小管結合タンパク質ダブルコルチンによる機能制御。 陳丁熙
（早稲田大学大学院先進理工学研究科生命医科学専攻 博士課程 2 年）

ポスター19、転写抑制因子 RP58 は細胞自律的に大脳皮質発生過程における神経細胞移動を制
御する。 丸山千秋（東京都神経科学総合研究所・分子神経生理 主席研究員）

ポスター20、セマフォリン 3A は AMPA 型受容体・GluR2 の樹状突起への輸送を亢進する。
山下直也（横浜市立大学医学部分子薬理神経生物学 助教）

ポスター21、予定前中脳領域における Otx2 遺伝子発現の分子メカニズム 井上詞貴（理化学
研究所、発生・再生科学総合研究センター ポスドク）

ポスター22、The role of thalamus-derived extrinsic molecules in development of
neocortical neurons. 佐藤晴香（大阪大学大学院 生命機能研究科 5 年一貫博士課程
5 年）

ポスター23、プラナリアの頭部再生過程における光受容の機能的な回復に関与する新規神経ペ
プチドの解析。 井上武（京都大学・大学院理学研究科・生物科学専攻・生物物理学教室・分子
発生学講座 助教）

ポスター24、プラナリアおよびイモリの脳におけるドパミン神経再生機構に関する研究。 西
村周泰（京都大学大学院理学研究科・生物科学専攻・生物物理学教室・分子発生学講座 研究員）

ポスター25、神経発生における遺伝子発現モードによる神経分化制御機構の解明。 下條博美
（京都大学ウイルス研究所 ポスドク）

ポスター26、Dispersion of the neurons expressing layer specific markers in the reeler
brain. 勝山裕（神戸大学大学院 医学研究科 生理学細胞生物学講座 神経発生分野 助教）

ポスター27、中枢神経系組織における血管ネットワークのパターン形成。 高橋輝明（奈良先
端科学技術大学院大学 バイオサイエンス研究科 分子発生生物学講座 D2）

ポスター 28、Neurogenesis and oligodendrogenesis in the neonatal brain after
hypoxia-ischemia. 増田浩（名古屋市立大学大学院医学研究科再生医学分野 修士課程 1 年）

ポスター29、Properties of Neural Progenitor Cells during Neocortical Development as
Revealed by Single Cell Gene Expression Profiles. 岡本麻友美（名古屋大学大学院医学系
研究科細胞生物学 ポスドク）

ポスター30、Live observation of abnormal neuronal migration in the cerebral cortex of reeler mutant mice. リーラー大脳皮質での異常なニューロン移動のライブ観察。 佐藤俊之（名古屋大学医学部細胞生物学 学部学生）

ポスター31、NMDA 受容体阻害剤投与による成体海馬での統合失調症脆弱性因子 DISC1 の発現低下と新生ニューロンの移動異常。NMDAR antagonists administration cause down-regulation of DISC1 expression and over migration of newly generated neurons in the adult hippocampus. 難波隆志（名古屋大学大学院医学系研究科神経情報薬理学講座 特任助教）

ポスター32、Functions of Notch signaling in zebrafish lateral line migration. 溝口貴正（名古屋大学高等研究院 博士研究員）

ポスター33、Maintenance of neuronal progenitors requires the DeltaA in zebrafish. 沖川沙佑美（名古屋大学 理学部 生命理学科 4年 学部生）

ポスター34、New phenotypes of Olig2 knock-out mice in the developing dorsal root ganglia. 臼井紀好

ポスター35、Prefrontal-Enriched SLIT1 Expression in Old World Monkey Cortex Established during the Postnatal Development. 佐々木哲也（自然科学研究機構 生理学研究所 分子神経生理研究部門 大学院生）

ポスター36、脳の左右非対称性形成の解析。 竹林浩秀（熊本大学大学院 生命科学研究部 脳回路構造学 准教授）

ポスター37、グルタミン酸作動性神経細胞系譜に特異的に発現する遺伝子の検索。 渡辺啓介（熊本大学大学院生命科学研究部脳回路構造学 助教）

ポスター38、Axon extension and stalling regulated by membrane protein M6a in mouse brain. 三田さくら（総合研究大学院大学 遺伝学研究所 脳機能研究部門 大学院生）

ポスター39、Dorsally or ventrally located Olig2-lineage cells generate GABAergic neurons in ventral lateral geniculate nucleus (vLGN) or reticular thalamic nucleus (RTN), respectively, in the developing ventral thalamus. 稲村直子（生理学研究所分子神経生理 研究員）

ポスター40、A Histone H2B ubiquitin ligase Bre1 is a candidate as a modulator of neural stem cell fate. 石野雄吾（生理学研究所分子神経生理 総研大生）

ポスター41、The lineage tracing of Olig2+ cells in a murine demyelinating disease model. 清水崇弘（生理学研究所分子神経生理 総研大生）

Notch による神経上皮細胞の極性と脳室側に限局した細胞分裂の協調的制御

大畑慎也、青木亮、木下繁晴、鶴岡佐知子、山口雅裕、田中英臣、和田浩則、政井一郎、岡本仁
(理化学研究所脳科学総合研究所発生遺伝子制御研究チーム)

神経上皮細胞は高度に発達した細胞極性を持つ初期神経発生神経幹細胞であり、細胞周期に応じてその核を移動させ、脳室側でのみ細胞分裂を行う。ゼブラフィッシュ *epb41l5^{rw306}* 変異体では、細胞極性の維持に必須な Crb・Epb41l5 複合体が形成できないために、神経上皮細胞の細胞極性が破綻していた。I 型膜タンパク質 Crb は Notch と細胞外で結合し、Notch 活性を阻害したが、この抑制は Epb41l5 によって回復した。*epb41l5^{rw306}* 変異体で

は、Notch 活性が低下しており、脳膜側で分裂する中間前駆細胞様の細胞数が増加していた。驚いたことに、Notch を活性化させると、中間前駆細胞様細胞数が減少するだけでなく、細胞極性までもが回復した。さらには、R-Ras が Notch の下流で細胞極性の維持に機能していた。以上から、Crb・Epb41l5-Notch シグナルは神経上皮細胞の細胞分裂を脳室側に限局するだけでなく、細胞極性の維持も同時に行っていることが明らかになった。

成体神経幹細胞における purinergic signaling の役割

陶山智史、砂堀毅彦、岡野栄之 (慶應義塾大・生理学教室)

成体哺乳類の側脳室側壁 (SVZ) 及び海馬歯状回 (SGZ) には神経幹細胞が存在し、恒常的な神経新生が起こっている。これらの領域には特異的な微小環境 (niche) が存在し、様々な細胞間コミュニケーションにより神経幹細胞の増殖や運命決定が制御されている。purinergic シグナルは、中枢神経系で細胞間コミュニケーションを担う重要なシグナルであることが知られているが、*in vivo* neurogenic niche における役割は分かっていなかった。

我々は、成体マウス SVZ の神経前駆細胞に purinergic レセプターである P2Y1 が発現していることを示し、浸透圧ポンプを用いて、ATP および ATP アンタゴニストを脳室へ投与することで、神経前駆細胞の増殖が ATP によって制御されることを示した。

これらの結果より、SVZ neurogenic niche において ATP は神経前駆細胞の増殖を制御していることが明らかとなった。

細胞周期調節因子 Cyclin D2 mRNA の時空間的転写後調節は神経上皮細胞の分裂後運命を非対称に決定し、哺乳類の皮質形成に重要であるかもしれない

恒川雄二 (東北大学大学院医学系研究科形態形成解析分野)

神経上皮細胞は哺乳類神経系源基を構成する細長い極性をもった細胞である。神経上皮細胞は発生初期、対称分裂という2つの神経上皮細胞を生み出す分裂を行いその数を増やしていき、発生中期に入ると今度は非対称分裂と呼ばれる1つのニューロンと1つの神経上皮細胞を生み出す分裂を行いニューロンの数を増やしていく。このよう非対称分裂は脳構築において重要な働きをしていると考えられている。しかしながら、哺乳類神経上皮細胞の非対称分裂においてどのような因子が分裂後の娘細胞に非対称性を生み出しているのかは未だに分かっていないことが多い。今回我々は、神経上皮細胞において、細胞周期調節

因子 Cyclin D2 がいままで哺乳類神経上皮細胞では報告の無かった、mRNA の細胞内局在および局所的な翻訳のメカニズムを用いて分裂後の娘細胞に非対称に分配され、分配された娘細胞は増殖の運命つまり神経上皮細胞としての運命をコミットしている可能性が高いことを発見したので、これを報告する。

Foxg1 による大脳皮質ニューロンの経時的分化能の調節機構

大脳皮質を構成するニューロンの多様性は、神経前駆細胞の経時的な分化能の変化によって産み出される。この結果、大脳皮質の脳室帯から異なる種類のニューロンが順次産生される。しかしながら神経前駆細胞の経時的分化能を調節する機構については、未だ不明な点が多い。我々はこれまでに終脳に発現するフォークヘッド型転写因子 Foxg1 が、発生初期に産生されるカハール・レチウス細胞の分化を抑制することを明らかにした。今

隈元拓馬、グナディ、水谷健一、花嶋かりな
(理研 発生・再生研 大脳皮質発生研究チーム)
回、Foxg1 の発現を時期特異的に制御することによって、大脳皮質細胞の経時的な分化能を解析した結果、グルタミン酸作動性ニューロンの順次産生のタイミングが Foxg1 の発現のオフ、オンの切り換えに伴って移行することを見出した。これらの結果より、Foxg1 が初期細胞から深層投射ニューロンへの分化のスイッチを制御することが明らかになった。現在、この過程において Foxg1 の下流で作動する遺伝子プログラムの同定を進めている。

Rett 症候群原因遺伝子産物 MeCP2 の機能解析

辻村啓太、鈴木暁也、中島欽一 (奈良先端大・バイオ・分子神経分化制御)

Rett 症候群は進行性の神経発達疾患であり、X 染色体上の *methyl-CpG-binding protein 2* (MeCP2) 遺伝子の変異により発症することが知られている。Rett 症候群は自閉症やてんかん、精神遅滞などの臨床症状を示し、主に女兒にのみ発症する。MeCP2 はメチル化 DNA 結合タンパク質ファミリーのメンバーであり、転写抑制因子として機能する。最近、MeCP2 は RNA スプライシング、クロマチンループ構造を制御することや、CREB1 と結合することにより転写活性化因子としても作用することが報告された。また、これまで MeCP2 はニューロンにおいてのみ発現および機能していると考えられていたが、グリア細胞においても MeCP2 は発現しており、細胞非自律的機構により神経機能に影響を与えることが示された。本研究では、中枢神経系の主要な細胞種における MeCP2 の機能を明らかにするため、それぞれの細胞種において MeCP2 結合タンパク質を網羅的に同定した。本会ではこれらの結果について考察したい。

MicroRNA-124a をコードする網膜の蛋白質非コード RNA *Rncr3* の機能解析

佐貫理佳子、古川貴久 (大阪バイオ研・発生生物学)

網膜は眼球の後方にある中枢神経系組織であり、光信号を電気信号に変換するのみならず、色・形・動きなど

を抽出する処理も行い、脳へと視覚情報を送り出している。生体レベルの解析も容易であることから、中枢神経系の発生・回路形成を理解する良いモデルとして知られている。我々は網膜に高発現する遺伝子のスクリーニングから *retinal non-coding RNA3 (Rncr3)* として登録されている遺伝子を同定した。我々は *Rncr3* に *miR-124a* がコードされていることを見出し、ノックアウトマウスを作製した。マウス脳に発現する *miRNA* の中で、*miR-124a* は

最も多く発現していることが知られている。また *miR-124a* は線虫からヒトまでよく保存されている *miRNA* である。しかしながら *miR-124a* と中枢神経系の発生との関係については、様々の相反する研究結果が報告されており、未だ不明な点が多い。網膜における *Rncr3* ノックアウトマウスの解析より、*miR-124a* は神経細胞への分化よりもむしろ、その成熟や維持に重要な機能を持つ可能性が示唆された。

神経核形成過程における細胞移動様式の解明－橋核をモデルとした解析－

篠原 正樹、Yan Zhu、村上 富士夫 (大阪大学大学院・生命機能研究科)

脊椎動物の中枢神経系における基本構造の一つとして神経核がある。神経核は神経細胞の凝集体であり、中枢神経系に非常に多く存在し、神経回路の分岐点や中継点として重要な役割を担っている。今回我々は、小脳前核群の一つである橋核をモデルとし、神経核形成時の細胞の移動パターンを明らかにする事を目的とした。我々は下菱形脳に電気穿孔法を用いて *egfp* 遺伝子を導入し、標識細胞が予定神経核領域に到達する時期にタイムラプス解析を行い、予定神経核領域に到達した標識神経細胞の

移動の観察を行った。その結果、神経核系形成後期に橋核に進入する細胞は既に到達している細胞群の腹側に付け加わることと、核形成初期には多くの細胞が法線方向へ移動するのに対して、後期では進入方向の逆（外側）へ向かう細胞が多くなることが示された。これより、核形成には後から到達する細胞が神経核の外側部に付加され、移動方向を転換させる事が重要である可能性が示唆された。

大脳皮質錐体細胞における軸索ガイダンス分子 Roundabout1(Robo1)の役割

権田裕子¹、関口 正幸²、田畑秀典³、和田 圭司²、仲嶋一範³、内野茂夫¹、高坂新一¹

(1 国立精神・神経センター・神経研究所・代謝, 2 国立精神・神経センター・神経研究所・疾病 4 部, 3 慶応大・医・解剖)

Robo は、反発性の軸索ガイダンス分子であり、近年、ヒトにおいて発達障害との関連性が報告されている。本研究では、生後発達過程の大脳皮質錐体細胞における *Robo1* 分子の機能について検討した。大脳新皮質における *Robo1* の発現は発生の早い時期から認められ、層構造形成が進むにつれて特定の層に局限していた。*RNAi* を用いて第 II/III 層の神経細胞での *Robo1* の発現を抑制し経時的に細胞の形態を解析した結果、*RNAi* を導入した

神経細胞は生後第 II/III 層の上層に位置し、*apical* 側に複数の *neurite* を持ち、*basal* 側には太く長い *neurite* を持つ形態が認められた。さらに電気生理学実験を用いて神経活動について解析した結果、*mEPSC* の頻度が有意に高いことが判明した。以上のことより、*Robo1* は生後発達過程の大脳皮質錐体細胞の形態決定に関与する重要な分子であることが示された。

COUP-TFII 発現領域に由来する大脳皮質抑制性神経細胞の解析

金谷繁明、田中大介、本田岳夫、田畑秀典、仲嶋一範 (慶應・医・解剖)

大脳皮質の発生では、抑制性神経細胞は主に内側基底核原基 (MGE) と尾側基底核原基 (CGE) から由来すると考えられている。近年我々は CGE に優位に発現する因子として COUP-TFII を見出し、CGE 由来細胞の挙動を制御することを示した。COUP-TFII は CGE に優位に発現するが、腹側 MGE など、CGE 以外の領域の一部にも

発現が認められ、また COUP-TFII は MGE 細胞を尾側へ誘導する能力があることから、それら領域においても尾側移動を誘導していることが考えられる。本研究では CGE 外における COUP-TFII 発現領域に由来する細胞群の尾側移動とその移動経路、および COUP-TFII と移動メカニズムの関わりについて発表する予定である。

神経系前駆細胞におけるグローバルなクロマチン状態の変化

藤井佑紀、岸雄介、平林祐介、後藤由季子 (東大分生研・情報伝達)

幹細胞は自己複製能と多分化能を併せ持つ未分化細胞である。組織幹細胞のうちの一つである神経系前駆細胞は、自己複製能と、神経系のさまざまな細胞 (ニューロン、アストロサイト、オリゴデンドロサイト) を生み出す多分化能を持つ。しかし、その能力は発生時期が進むにつれて失われていく。この時、細胞内では性質の変化に伴って遺伝子発現が大きく変化する。遺伝子が発現すると

きには、特定の遺伝子座においてクロマチン構造がゆるむことが知られているが、本研究では神経系前駆細胞のクロマチン状態が発生時期の進行につれて核全体で凝集した状態に変化する事を明らかにした。さらに、このクロマチンの凝集状態が神経系前駆細胞の持つ自己複製能や多分化能に相関があることが示唆された。

Early-Arriving Olfactory Axons Deliver Sema3F to the Olfactory Bulb to Repel Late-Arriving Nrp2⁺ Axons

井ノ口霞、竹内春樹、坂野仁 (東京大学・理学系研究科・生物化学専攻)

マウス嗅覚系の神経地図形成において、嗅球の背腹軸方向に沿った嗅神経細胞 (嗅細胞) の軸索投射位置は、嗅上皮における細胞体の位置情報によって決定される。我々は最近、軸索ガイダンス受容体 Neuropilin-2 とその反発性リガンドである Semaphorin-3F が嗅上皮において相補的かつ濃度勾配をなして発現し、背腹軸に沿った神経地図のトポグラフィー形成に重要な役割を果たしていることを見出した。分泌性タンパク質である Sema3F は背側ゾーンに位置する嗅細胞で産生され、軸索を通して嗅球へと輸送された後、その背側領域に沈着する。発生

段階において嗅細胞は、嗅上皮の背側にあるものが先ず成熟し、次第に腹側へ向かって成熟範囲を広げていく。これに呼応して、嗅球も背側部分から形成が始まり、嗅細胞の軸索投射は背側から順次腹側へと進行する。本研究では先行する軸索が持ち込んだ反発性の cue を、後に投射してくる軸索がその受容体の発現レベルを増しながら順次ターゲットに到達するという、神経地図形成の新しいメカニズムが明らかになった¹⁾。

*Takeuchi H., * Inokuchi K. *et al. Cell*, in revision (*equally contributed)

NT-3 の軸索誘導活性と作用機構の解明

中牟田信一、船橋靖広、難波隆志、上口裕之、貝淵弘三 (名大・医・薬理学)

海馬の興奮性神経細胞では分化の過程において、共通の未成熟な突起から軸索と樹状突起が形成されるが、両者の運命決定機構は未だ解明されてい

ない。神経栄養因子 (NT-3) は、神経細胞の軸索伸長や、樹状突起のスパイン形成に関与している。本研究では、NT-3 の軸索誘導活性とその作用機構

を明らかにすることを目的とした。人為的に軸索を誘導する方法として、未成熟な複数の突起のうち1つの突起にのみ、局所的に刺激を与える系を確立した。NT-3の局所刺激は、突起伸長を促し軸索形成を誘導した。NT-3のシグナル伝達経路について解析したところ、PLC-IP₃-IP₃受容体を介する経路が極性獲得前の突起伸長に関与していること

を見出した。さらに、NT-3刺激は突起先端の成長円錐でカルシウム上昇を誘導した。このカルシウム上昇は、下流分子であるCaMKK-CaMKIを活性化した。以上の結果から、NT-3により1本の軸索が誘導される際に、PLC-カルシウム-CaMKIを介したシグナル伝達経路が関与していることが明らかになった。

小脳プルキンエ細胞の軸索維持におけるHuCの機能

角元恭子、岡野ジェイムス洋尚、Robert Darnell、岡野栄之 (慶應義塾大学・生理学)

Hu蛋白質(HuB、HuC、HuD)は、神経細胞特異的に発現するRNA結合蛋白質で、その発現はHu蛋白質の発現は胎仔期から成体期において維持される。脊椎動物の発生期において、Huが神経細胞への分化過程で重要な機能を担うことが知られているが、成熟神経細胞におけるHu蛋白質の生理機能は明らかにされていない。そこで、Huノックアウトマウスの作成および解析を行

った結果、これまで報告されている小脳失調モデルマウスと異なり小脳発生を経た後、後天的にプルキンエ細胞の脱落を伴わない軸索変性および運動失調を生じることを見いだした。また成体マウスのプルキンエ細胞では、Hu蛋白質のうちHuCのみが特異的に発現している。これらの結果から、HuCは発生期に形成された軸索および神経回路を維持する機能を担う可能性が示唆された。

感覚神経細胞が、軸索伸展の初期過程で神経成長因子に依存しないのはなぜか？

青木誠、瀬川浩、内藤真由美、岡本仁 (理化学研究所BSI発生遺伝子制御研究チーム)

Trkシグナルは神経細胞の生存、軸索伸展に関与する。しかし、栄養因子分泌組織から遠い神経細胞がどのようにして軸索伸展及び生存を確保するかは未だ不明な点が多い。新規遺伝子 *sidetrk1* はゼブラフィッシュ Rohon-Beard(RB)感覚神経細胞において発現し、末梢軸索の伸展を制御している。*Sidetrk1*はTrkと結合し、Trkの細胞表面への輸送を阻害した。さらに*Sidetrk1*はNGFによるTrkシグナルには影響を与えず、PACAP(Pituitary Adenylate Cyclase-Activating Peptide)によるTrkのリガンド非依存的なシグナルを活性

化した。またRB神経細胞では *pacap1b* 及び受容体 *pac1* が発現しており、*pacap1b* のノックダウンによりRB neuronの末梢軸索進展が阻害された。この表現型は、*Sidetrk1*の過剰発現では回復しなかった。このことから*Sidetrk1*は、NGFが得られない軸索伸展の初期に、PACAP1bによるTrk活性化を促進し、神経細胞の軸索伸展及び生存に関与すると考えられる。

Epigenetic control of cell-type specific response to the steroid hormone Ecdysone in *Drosophila* sensory neurons

金森崇浩、榎本和生 (遺伝研・神経形態)

ステロイドホルモンは、ニューロンの生存あるいは死、さらには神経突起の形態変化など様々な細胞応答を引き起こすことにより、神経回路の構築を制御する。しかし、個々のニューロンが如何にして異なる細胞応答を示すのかは未解明である。我々は、ショウジョウバエ感覚ニューロンをモデル系としてこの問題にアプローチしている。幼虫から蛹への変態過程において、ステロイドホルモンであるエクジソンはクラスIII感覚ニューロンの細胞死を誘導する一方で、クラス IV 感覚ニューロンに対しては

細胞死を誘導せず樹状突起の刈り込みを引き起す。そこで、我々はこれらの感覚ニューロンが示す細胞応答のいずれかを特異的に制御する遺伝子の探索を行った。その結果、クロマチンリモデリングに関わるエピジェネティック因子群がクラス IV 感覚ニューロンの樹状突起の刈り込みを特異的に制御することを見出した。本発表では、異なる感覚ニューロンが示す細胞応答の特異性がクロマチン構造の制御により生み出される、という新たな作用機序を提唱したい。

発生過程における神経冠細胞と血管の相互作用

高瀬悠太、高橋淑子 (奈良先端大学院大学・分子発生生物学講座)

血管ネットワークは体の中で厳密に規定されている。発生過程において血管パターンが形成される際には、その周辺組織から何らかの働きかけが起こっていると考えられているが、その細胞・分子実体はまだまだ分かっていない。このメカニズムを解き明かすにあたり、我々は体節間血管 (ISV) と神経冠細胞の関連に注目した。体節間血管は、胚体内で最初に形成される動脈である背側大動脈 (DA) からセグメンタルに伸長している血管である。我々は、DA から ISV が伸長する位置と、神経冠細胞の

一部 (交感神経前駆細胞) が DA 周辺で存在している位置がよく似ていることから、神経冠細胞が ISV 形成に関係しているのではないかと考えた。そこで、トリ胚を用いて神経冠細胞を除去した所、ISV 形成に異常が見られた。このことから、ISV 形成には神経冠細胞が必要なが示唆された。興味深いことに、発生後期では、DA 周辺にいた神経冠細胞は ISV に沿うように移動する。これらのことから、神経冠細胞と ISV は、発生過程の様々な時期で相互に作用しあっていることが考えられる。

発生過程における神経冠細胞と血管の相互作用

高瀬悠太、高橋淑子 (奈良先端大学院大学・分子発生生物学講座)

血管ネットワークは体の中で厳密に規定されている。発生過程において血管パターンが形成される際には、その周辺組織から何らかの働きかけが起こっていると考えられているが、その細胞・分子実体はまだまだ分かっていない。このメカニズムを解き明かすにあたり、我々は体節間血管 (ISV) と神経冠細胞の関連に注目した。体節間血管は、胚体内で最初に形成される動脈である背側大動脈 (DA) からセグメンタルに伸長している血管である。我々は、DA から ISV が伸長する位置と、神経

冠細胞の一部 (交感神経前駆細胞) が DA 周辺で存在している位置がよく似ていることから、神経冠細胞が ISV 形成に関係しているのではないかと考えた。そこで、トリ胚を用いて神経冠細胞を除去した所、ISV 形成に異常が見られた。このことから、ISV 形成には神経冠細胞が必要なが示唆された。興味深いことに、発生後期では、DA 周辺にいた神経冠細胞は ISV に沿うように移動する。これらのことから、神経冠細胞と ISV は、発生過程の様々な時期で相互に作用しあっていることが考

えられる。

プラナリアの行動解析システムを利用した脳再生と脳機能の解析

山下大河、井上武、西村周泰、Clement Lamy、阿形清和 (京大・理・分子発生学講座)

プラナリアは進化的に初めて集中神経系を獲得した生物だと考えられており、その脳は、単純ながらもよく組織化されていることが分かってきている。実際に、プラナリアの行動は脳によって制御されており、そのため、プラナリアは脳高次機能の解析には非常に興味深く、脳の基本型を知るのに有用な動物だと考えられる。そこで今回、脳高次機能の解析を行うために、これまでに確立されていた負の走光性、化学走性の行動解析システムに加え、新たに温度走性、接触走性の行動解析システムの

立ち上げを行った。また、今回確立した行動解析システムと RNAi 法による遺伝子ノックダウンを組み合わせた解析によって、温度走性、接触走性に関わる遺伝子や神経細胞の探索および神経ネットワークの同定も試みた。その結果、温度感受に必要な遺伝子が同定され、またその発現細胞が温度感受細胞であることが示唆された。さらに、温度走性と特定の神経細胞との関わりも見いだされた。

色素細胞の挙動とメラニン輸送の可視化：表皮培養法を用いたライブイメージング観察

酒井謙一郎、田所竜介、村井英隆、高橋淑子 (奈良先端大・バイオ)

動物の表皮には、紫外線から体を守るためにメラニン色素が存在している。メラニン色素は、表皮に存在する色素細胞内の細胞小器官（メラノソーム）で合成されたのち、色素細胞の樹状突起を通して、表皮角化細胞へと輸送される。この輸送については培養細胞を用いた解析や電子顕微鏡による観察から複数のモデルが提唱されているものの、実際の生体内における色素細胞と角化細胞の間でどのようにメラニンがやりとりされるのかについては依然不明な点が多い。私達はトリ胚から単離した表皮組織を培養し、ライブイメージング法を用いて、色素細胞の挙動およびメラニン輸送を直接可視化することに

成功した。この結果、色素細胞の樹状突起がダイナミックに伸展と退縮を繰り返すことが明らかになった。また、メラニン輸送に至る過程で樹状突起が盛んにブルブブルを起こしたのち、メラニンを含んだ膜小胞が細胞外に放出される現象を見いだした。この膜小胞は周囲の角化細胞に輸送される。これらの結果から、少なくともトリ胚表皮においてはメラニン色素が膜小胞を介して色素細胞から角化細胞へと輸送されることが示唆された。

Sbno1 はマウス神経分化に必須な因子である

高野愛、蔵地理代、出来本秀行、#日比正彦、寺島俊雄、勝山裕 (神戸大学・医、#理研 CDB)

strawberry notch(sbno)遺伝子はショウジョウバエ遺伝学的解析より文脈依存的 (inductive signaling) に働く Notch

シグナル下流因子とされている。しかし脊椎動物脳発生における役割は不明である。今回、我々はマウス大脳皮

質発生での **Sbno1** の役割について検討した。免疫組織化学的観察から **Sbno1** が分化初期ニューロンの核で強く発現している事が分った。マウス胚大脳皮質細胞一次培養系を用いた **Sbno1** 機能阻害実験ではニューロンの分化が抑制され、この時 **Delta like-1** タンパクの減少と **Hes 5** タンパクの増加が見られた。逆に **Sbno1** を強制発現させるとニューロンの分化が促進された。更に **Sbno1** の生化学的機能について知見を得るために酵母2ハイブリッドスクリーニングを行った。その結果 **Notch** シグナル細胞内

因子である **Su(H)**を含むいくつかの遺伝子が単離され、**Su(H)**と **Sbno1** との結合は免疫沈降法においても確認出来た。

以上の結果から、**Sbno1** は核内で **Notch** シグナルを抑制する事でニューロン分化を促進する因子である可能性が示唆された。

発生期大脳皮質におけるロコモーション様式の神経細胞移動に関わる制御因子の解析

西村嘉晃^{1,2}、関根克敏¹、地濱香央里²、鍋島陽一²、仲嶋一範¹、星野幹雄^{2,3}、川内健史^{1,2,4}

(¹慶應大・医・解剖、²京大・医・腫瘍生物、³国立精神・神経センター・神経研・診断、⁴JST・さががけ)

哺乳類の大脳皮質は整然とした層構造をなしており、これは発生期における適切な神経細胞移動によって形成される。神経細胞移動は、いくつかの連続的な段階に分けられるが、その中でもロコモーション様式と呼ばれる移動段階は移動過程の最も長い距離を占めており、層構造形成に重要な役割を果たすと考えられている。しかし、従来の実験系では、ロコモーション移動の分子機構を直接解析することは困難であった。本研究では、マウス胎

仔大脳皮質スライス培養を用いた新規阻害剤スクリーニング法を確立し、**Cdk5** および **Src** ファミリーキナーゼがロコモーション移動に関与することを見出した。また、**PKCδ**の阻害剤として広く用いられていた **Rottlerin** が、**JNK** 経路を阻害することによりロコモーション移動を抑制していることも明らかにした。本研究で確立した阻害剤実験系は、ロコモーション移動の分子機構を理解するために有用であると考えられる。