

研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名

神経結合の形成、維持、再編成を制御する分子機構の解明

2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名（研究機関名・職名は研究参加期間終了時点）

研究代表者 藤澤 肇 名古屋大学大学院理学研究科 教授

主たる研究参加者 平田 たつみ 国立遺伝学研究所 助教授（平成11年4月1日～）

八木 健 岡崎・生理学研究所 助教授（～平成12年10月31日）

山本 亘彦 大阪大学大学院基礎工学研究科 助教授（～平成9年3月31日）

3. 研究内容及び成果

成体で見られる神経回路は、発生時での神経細胞同志の選択的な識別と結合の所産である。従って、完成した脳・神経系の機能を理解する上に、個体発生の過程で神経軸索が特定の伸張路を選別し、特定の標的を識別し、これと選択的にシナプス結合する機構を明らかにすることがきわめて重要な課題である。また、完成した脳神経系が遂行する複雑な脳機能が多様でかつ特異的な神経結合に基づいていることを考えると、神経回路の多様性を生み出す分子制御機構の解明がきわめて重要である。さらに、これら神経回路形成を制御する機構は脳機能発現に伴う神経結合の強化や再編成など神経結合の可塑的変化の過程をも制御していると考えられる。

これまでに、神経軸索の伸張を促進ないしは抑制する因子、神経細胞の接着を促す分子、シナプス結合形成に関与すると予測される細胞接着分子、あるいは神経軸索の伸張のための足場を提供する分子などが数多く報告されているが、これら分子の機能は大部分が*in vitro* モデル実験系で得られた結果に基づいており、実際に生体内での神経回路形成の過程をどのように制御しているのかほとんど不明である。

このような観点から、本研究では、以下の3点を研究の柱にすえ、生化学、分子生物学、遺伝子工学、発生病学的手段を駆使して神経軸索のガイダンスや神経細胞移動に関与する新たな分子の発見と、それら分子の機能を明らかにする研究を実施した。

- 1) 神経回路形成に関与することが予測される神経系膜分子ニューロピリンとプレキシンに着目し、相同組み換えによりこれらの遺伝子機能を破壊したマウスを作製し、これら膜分子の神経回路形成に果たす役割を明らかにする。
- 2) 神経回路形成を制御する新たな分子を見いだすための研究システムを開発する。このため、培養下で嗅覚神経回路を再現させる実験系を開発し、この系を用いて、モノクローナル抗体法により神経軸索の伸張を制御する新たな因子、分子をスクリーニングする。
- 3) シナプス結合とシナプス機能に深い関わりを持つ Fyn に注目し、Fyn 結合分子を検索し、神経発生ならびに脳機能発現をもたらす新たな分子メカニズムを明らかにする。

分子機能解析グループ

- 1) 遺伝子機能解析グループとの共同で、ニューロピリン1ならびに神経軸索の伸張を抑制する反発因子として知られているセマフォリン3A (Sema3A) 遺伝子ノックアウトマウスを作成しその表現形を解析し、ニューロピリン1がセマフォリン3Aの機能的レセプターであること、ニューロピリン1を介したセマフォリン3Aシグナルが秩序だった末梢神経パターンの形成を制御することを明らかにした。
- 2) ニューロピリン1を介したセマフォリン3Aシグナルは秩序だった交感神経系パターンの形成を制御することを明らかにした。
- 3) ニューロピリン1は血管系では血管内皮増殖因子VEGFのレセプターとして機能し、胚の血管形成を適切なレベルに制御するレギュレーターであることを明らかにした。
- 4) ニューロピリン1は細胞接着レセプターとしても機能する多機能分子であることを明らかにした。
- 5) ニューロピリンの機能解明と平行して、プレキシンの解析を実施し、マウスで4種類のプレキシン遺伝子を分離し、それぞれのプレキシンが発生時の特定の神経回路で選択的に発現することを明らかにし、プレキシンが神経回路の形成に関与する可能性を示した。
- 6) プレキシンがニューロピリンと複合体を構成してセマフォリンの受容体として機能することを明らかにした。
- 7) プレキシン自身と直接相互作用するセマフォリンが存在するを見だし、プレキシンが多重セマフ

オリンレセプターであることを明らかにした。

- 8) 神経系の形態形成に関与する新たな遺伝子を探るために、線虫 *C. elegans* の神経系の形態に異常を示す変異体の検索を行った。この結果、腹側神経束が体壁から遊離するという表現型 Ven を発見し、新規な 3 遺伝子座と既知の *mua / mup* 遺伝子座の変異が Ven 異常を引き起こすことを明らかにした。
- 9) プレキシン遺伝子ノックアウトマウスの作製、ならびに線虫を用いたプレキシン分子の遺伝学的解析を行い、プレキシンの機能を明らかにする研究を実施した。

嗅覚回路形成解析グループ

- 1) 神経回路形成機構解析のためのモデル実験系として、嗅覚神経回路を培養下で再構築する技術を開発し、この系を用いて、モノクローナル抗体法を用いて嗅球軸索をガイドする道標細胞、lot 細胞を同定した。
- 2) lot 細胞の発生機構を解析し、この細胞が終脳新皮質全体から分化し、将来局在する嗅索 (LOT) 領域まで腹側接線方向へと移動することを明らかにした。
- 3) lot 細胞による短距離性軸索ガイドと軸索反発因子 Slit との関係を明らかにした。
- 4) 僧帽細胞の軸索側枝形成と標的への侵入機構を明らかにした。
- 5) モノクローナル抗体法を用いて嗅球軸索伸長の制御に関与する膜蛋白質 M6a を見いだした。

遺伝子機能解析グループ

- 1) 遺伝子欠損マウス作製のための各種の技術開発を行った。
- 2) NMDA 受容体サブユニット、GABA 合成酵素、コンプレキシン 2 遺伝子欠損マウスの作製を行った。
- 3) 分子機能解析グループと共同で、ニューロピリン、セマフォリン、プレキシン欠損マウスを作製し、神経回路形成の分子機構の解析を行った。
- 4) Fyn 欠損マウスを用いた神経回路形成と行動制御機構の研究を行った。
- 5) Fyn 結合タンパク質の単離・同定を行い、Fyn と結合するカドヘリン様分子である CNR (cadherin-related neural receptor) を見いだした。
- 6) CNR ファミリーの発現様式の検討、Reelin との相互作用の解析を行い、CNR が脳の初期発生段階では Reelin に対する多重レセプターとして機能しており、胎児大脳皮質における神経細胞の移動の制御に重要な関わりを持っていることを明らかにした。
- 7) CNR ファミリーのゲノム構造の解析、遺伝子発現調節機構の解析を行い、CNR ファミリーが可変領域と定常領域からなり、これにより CNR ファミリーの多様性を生み出すことを明らかにした。

生理機能解析グループ

皮質表層に発現する軸索伸長抑制因子が層特異的な視床皮質投射を起こす機構を明らかにするため、大脳皮質切片を視床組織片と共培養する方法を考案し、大脳皮質の層特異的シナプス結合を規定する膜結合型因子の検索と機能解析を行った。

4. 事後評価結果

4-1. 外部発表(論文、口頭発表等)、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果の状況

神経回路を形成する制御の機構を研究代表者が発見したセマフォリン、ニューロピリン、プレキシンの遺伝子ノックアウト (KO) マウスを作製して、その表現型を解析し、プレキシンの生体機能について、多くの新しい発見に至っている。1) 末梢神経系の投射パターンを制御する分子機構を解明し、2) ニューロピリン 1 を介したセマフォリン 3 A シグナルが末梢神経系の形成のみならず、交換神経系のパターン成立に不可欠であることを発見した、3) ニューロピリン遺伝子 KO マウスで、血管系で、ニューロピリン 1 が VEGF レセプターとして働き胚血管形成を制御していることを発見した。また、嗅覚回路形成の際の lot 細胞の同定、M6a 蛋白の発見、CNR ファミリーの大規模な機能解明など重要な発見がなされた。

ニューロピリン 1 がセマフォリン 3 A の受容体であることを発見したのは大きな成果だった。さらにニューロピリン 1 を介したセマフォリン 3 A シグナルは交感神経系パターンの形成を制御することを示した。神経結合の形成、維持、再編成を制御する分子機構を解明するという当初の目的はかなり達成し非常に満足できる。

どのグループもよく貢献しているが、ことに遺伝子 KO マウスの作製を推進した岡崎国立共同研究機構の遺伝子機能解析グループの貢献度は大きい。また、Fyn と結合する新たなカドヘリン分子 CNR ファミリーの発見も極めて大きい寄与である。

in vivo の機能解析を目指した研究であるため発表論文は少ないが質は高い。Cell (1 編)、Nature

Genetics (1編)、Neuron (2編)、Genes and Dev., J. Cell Biol., Development, J. Neurosci. (3編) などインパクトファクターの高い国際一流誌に論文を発表している。

国内2件、外国2件出願。これらが新しい薬剤の開発に有用かどうかは興味があり期待もしている。ニューロピリン、プレキシン、セマフォリン、FynなどのKOマウス、線虫変異株などが造られたのでこの分野で個体レベルでの機能解析研究が進むと思う。

4-2. 得られた研究成果の科学技術への貢献

ニューロピリン、プレキシン、セマフォリンは互いに関連して神経系の発生に重要な役割を果たしていることを明らかにしたことは科学的インパクトが大きい。これらが嗅覚回路形成や小脳顆粒細胞移動に関連するなど思いがけない研究の広がりを見せている。またプレキシンがセマフォリンレセプターとして働くというのも予想外の成果である。脳の回路形成・再編成に重要な機能分子を発見したインパクトは大である。培養系を用いた多くの同種研究の中で、遺伝子KO動物による機能解析を行ったユニークな研究として高く評価される。

藤澤教授はプレキシン、ニューロピリンの発見者、命名者であり、その研究が国際的に認知されたことは喜ばしい。比較的限られた分野であるが着実に成果を挙げている。神経回路網形成に新しい領域を開いた。国際競争が激しいが、本研究はCRESTによる支援で国際的に第一線に立っている。しかし外国の追い上げも極めて早いので、研究代表者のグループの一層の発展を期待する。

セマフォリンとその受容体のニューロピリン、プレキシンが生体内でどの神経回路の形成をどのように制御しているかを、極めて時間がかかるがノックアウトマウスで解析して、新発見に至っている。すなわち、1) セマフォリンとその受容体のニューロピリン、プレキシンの生体内での機能をさらに詳細に解析するのに、本研究で作製したニューロピリン1遺伝子、セマフォリン3A遺伝子、プレキシン遺伝子のノックアウトマウス、また線虫プレキシン変異体は極めて有用であり、新発見を期待する、2) 嗅覚経路の研究は新しい展開があることが期待される、3) Fyn欠損マウスの行動異常は興味深い。プレキシンに関する研究はこれから大きく進展するだろう。ニューロピリン1は血管内皮増殖因子VEGFの補助レセプターとして働くことが明らかにされたことは血管形成に関連して重要と思われる。今回の成果をふまえて中枢神経系での神経結合の形成、維持、再編成の分子メカニズムの解明に挑戦することが望ましい。良い実験系が開発されているので若い共同研究者達による将来の発展が期待される。

4-3. その他の特記事項

KOマウスは生体内での機能を知るのに必須だが極めて時間がかかる。遺伝子機能解析グループ(岡崎国立共同研究機構)、生理機能解析グループ(大阪大学大学院基礎工学)、嗅覚回路形成解析グループ(国立遺伝研)が、神経回路形成の目標に、一致して研究を進めてきた。八木健教授との共同研究は大きな成果を挙げた。

初年度に設備費を使用して、H9~H13年に次第に人件費が増えている。その他のrunning costは人件費に見合っている。比較的少ない人件費で(巨大な研究グループをつくらずに)重要な研究テーマに着実に取り組んだ代表者の姿勢を高く評価する。

ニューロピリン、プレキシンは、神経研究のみならず、血管研究、発生・再生研究、腫瘍研究などの広い分野での国際的研究目標となっている。本研究中に多くの若手研究者が育成された貢献も大きい。発見した新規機能分子の脳における機能的役割の解明に期待したい。

[<<脳を知るトップ](#)

This page updated on April 1, 2003

Copyright(C)2003 [Japan Science and Technology Corporation](#)