

研究課題別評価

1. 研究課題名 神経細胞の軸索成長の基本メカニズム

2. 研究者氏名 湯浅(河田) 純一

3. 研究の狙い：

多様な様式をとりながらも高度に秩序立てられた神経回路網がどのようにして形成されるのか、その基本原理を解明することは神経発生学の主要命題と考えられる。神経回路のおおまかな枠組みを作り上げる過程で重要な役割を果たしているのが軸索先端部の成長円錐であるが、種々の細胞外シグナルに応答しながらその将来の進行方向がどのようにして決定されるのかに関しては、いまだ不明な点が多い。本研究は、semaphorin シグナル伝達分子として同定された細胞内タンパク質 CRMP を成長円錐舵取り機構の主要コンポーネントと想定し、その機能解析を通して、軸索成長、ひいては神経回路形成の基本原理に迫ることを目標とした。

4. 研究結果：

まず、現在知られている5つのメンバーのうち CRMP 1 - 4について、既知のものとは N 末端領域が異なるバリエーションが存在することを明らかにした。ゲノム構造解析を行い、サブタイプ特異的なエクソンの順序に従って、新規バリエーション群を A タイプ (CRMP-As) 既知のものを B タイプ (CRMP-Bs) と命名した。興味深いことに、CRMP-As が軸索特異的に局在するのに対し、CRMP-Bs は軸索、樹状突起の両方に分布していた。

発生期において最も普遍的に発現している CRMP2A と CRMP2B を線維芽細胞において過剰発現させた場合、アクチン系に顕著な影響を及ぼすことなく微小管パターンをそれぞれ配向化とランダム化し、細胞の形態を劇的に変化させた。また、これら2つの CRMP は共存下でもその対照的な活性を発揮することが判明した。さらに、網膜培養ニューロンにおいて過剰発現させて、軸索形成における CRMP2A と CRMP2B の機能的差異について検討した。その結果、CRMP2A は軸索側枝形成に対し抑制的な作用を、一方 CRMP2B は促進的な作用を示した。当初、CRMP ファミリーは神経系に特異的に発現する分子群として同定されたが、実際には低レベルながらも多くの非神経性組織においても発現しているため、両サブタイプの対照的な微小管パターン調節活性を発揮することで、軸索成長、さらにさまざまな種類の細胞の極性制御に関与すると考えられる。本研究により、まだおぼろげながらも CRMP の正体が見え始めてきた。

CRMP が普遍的な細胞極性制御因子だとするならば、軸索ガイダンスからシナプス成熟までに亘る神経回路形成過程も、高度に厳密に制御された細胞極性化の一過程とみなすことができよう。今後さらに CRMP の機能を解明していくことで、神経回路形成の基本原理がよりはっきりと見えてくること、そしてその知見がさまざまな神経疾患の根本的な治療法の開発に繋がることを期待したい。

5. 自己評価：

CRMP の正体を暴くためには、非常に激しい国際的競争が現在もなお続いている。さきがけの期間を含めてそのような世界にどっぷりと浸り、競争の厳しさを身を持って知ったというのが正直

な感想である。仕事を最低限、まがりなりにも論文にまとめることはできたが、反省すべき点はあまりにも多い。来年よりアメリカに留学する予定であるが、新しい環境で心機一転し、また研究に取り組みたい。そして、さきがけに応募した際、心の中に描いていたテーマに新しい視点からアプローチしてみたいと考えている。

6. 研究総括の見解：

極めて競争の激しい状況下に置かれながら、適切な研究計画を着実に実施し、CRMP 分子を神経細胞の成長円錐の舵取りの主要な役割と想定して、軸索成長の基本的しくみを解明しようとした。CRMP 全体としては発見していた新規バリエーションを既知分子との比較のもとに解析し、当初の目的をほぼ達成した。CRMP - 分子モーター複合体の *in vivo* 単分子イメージングの完成と共に、微小管との関係についてさらに解析が進展することを十分期待させる。

7. 主な論文等：

原著論文

1. Fukada, M., Watanabe, I., Yuasa-Kawada, J., Kawaguchi, H., Kuroiwa, A., Matsuda, Y., and Noda, M. (2000). Molecular characterization of CRMP5, a novel member of the collapsin response mediator protein family. *J. Biol. Chem.* 275, 37957-37965.
2. Yuasa-kawada, J., Suzuki, R., Kano, F., Ohkawara, T., Murata, M., and Noda, M. (2003). Axonal morphogenesis controlled by antagonistic roles of two CRMP subtypes in microtubule organization. *Eur. J. Neurosci.* 17, 2329-2343.

学会発表

1. 湯浅純一、鈴木亮子、加納ふみ、大河原剛、村田昌之、野田昌晴 CRMP ファミリーの新規アイソフォームの同定と機能解析 第 25 回日本神経科学学会大会 7.7, 2002.
2. 湯浅純一、野田昌晴 新規 CRMP バリエーションの同定と機能解析, 第 25 回日本分子生物学会ワークショップ 横浜 12.12, 2002.

招待講演

1. 湯浅純一 神経細胞の軸索成長の基本的メカニズム, 国立遺伝学研究所セミナー (Biological Symposium) 7.9, 2002.

特許出願

1. 神経成長円錐の新規シグナル制御分子 CRMP, 出願日 : 平成 14 年 5 月 31 日 出願番号 特願 2002-160853