

配布先: 文部科学記者会、科学記者会、名古屋教育記者会

2024年 3月 28日

報道機関 各位

ゼブラフィッシュを用いて小脳発生のおくみを解明 ～試験管内での神経細胞産生への応用に期待～

【本研究のポイント】

- ・小脳神経細胞^{注1)}であるプルキンエ細胞や GABA 作動性介在神経を産生する神経前駆細胞が、顆粒細胞や出力細胞も産生することを明らかにした。
- ・Foxp と Skor ファミリー転写制御因子^{注2)}が、プルキンエ細胞の分化^{注3)}に重要な役割を果たすことを解明した。
- ・小脳の異常を示すヒト遺伝性疾患の病因の解明や、試験管内でのプルキンエ細胞産生への応用が期待される。

【研究概要】

名古屋大学大学院理学研究科の日比 正彦 教授、清水 貴史 准教授、伊藤 翼 助教授らの研究グループは、モデル動物であるゼブラフィッシュを用いて、小脳神経細胞が産生されるしくみを解明しました。

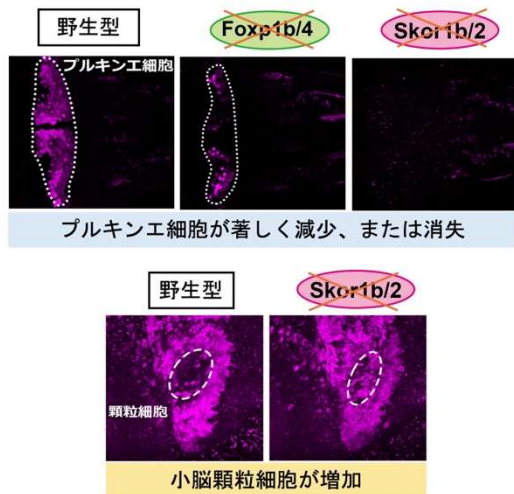
小脳は、円滑な運動制御や運動学習だけでなく、恐怖応答学習など情動に関わる高次機能にも関与する脳の領域です。小脳に存在するプルキンエ細胞や顆粒細胞など複数の神経細胞は、発生過程で作られる神経前駆細胞から産生されると考えられてきましたが、その詳細なしくみは分かっていませんでした。

本研究では、小脳の神経前駆細胞からプルキンエ細胞が選択的に分化する過程で、Foxp ファミリー転写制御因子である Foxp1b と Foxp4、Skor ファミリー転写共抑制因子 Skor1b と Skor2 が重要な役割を果たしていることを明らかにしました。今回の成果は、神経前駆細胞の時点でその運命が決まっているのではなく、分化の過程で発現する因子の作用を受け、多種多様な神経細胞が産生される、というメカニズムを示しています。小脳の異常を示すヒト遺伝性疾患の理解や、試験管内での小脳神経細胞産生への応用が期待されます。本研究成果は、2024年3月8日付イギリスの科学雑誌「Development」オンライン版に掲載されました。

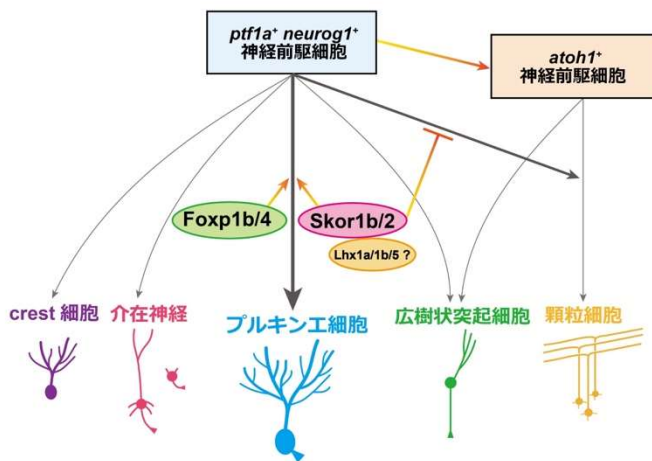
ゼブラフィッシュを用いて小脳発生のおくみを説明



Foxp1b/4、Skor1b/2欠損ゼブラフィッシュ



小脳神経細胞形成の分子メカニズム



【研究背景と内容】

◆研究背景

小脳は、協動的運動制御や運動学習だけでなく、恐怖応答学習など情動に関わる高次機能にも関与する脳の領域です。小脳は脊椎動物で保存されており(図 1)、魚で小脳形成メカニズムを理解することは、ヒトの小脳形成の理解にもつながると考えられます。小脳には、プルキンエ細胞や顆粒細胞などの複数の神経細胞が存在していますが、これら神経細胞は、プロニューラル遺伝子^{注4)} *atoh1*と *ptf1a*を発現する神経前駆細胞から分化すると考えられてきました(図 2)。これまでの研究から、*atoh1*を発現する神経前駆細胞は小脳原基(小脳の基となる組織)の背側に位置し顆粒細胞を含む興奮性細胞を産生すること、*ptf1a*を発現する神経前駆細胞は腹側に位置し、GABAを神経伝達物質としている抑制性神経細胞であるプルキンエ細胞や介在神経を産生すると考えられてきました。しかし神経前駆細胞の段階で将来産生される細胞の運命が決定しているかは明らかではありませんでした。

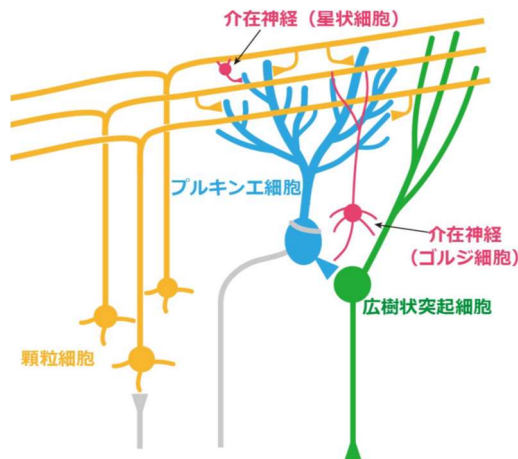


図1 ゼブラフィッシュ小脳神経回路

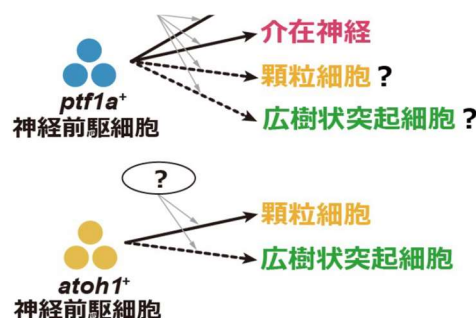


図2 小脳神経細胞の分化

◆研究内容

本研究では、*ptf1a* を発現する神経前駆細胞に着目しました。まず、この神経前駆細胞には、*ptf1a* だけでなく、プロニューラル遺伝子の *neurog1* が発現していることを明らかにしました。*ptf1a* と *neurog1* を両方欠失したゼブラフィッシュ変異体では、抑制性の神経細胞であるプルキンエ細胞、介在神経だけでなく、興奮性神経である投射神経細胞(ゼブラフィッシュでは広樹状突起細胞と呼ばれる)が著しく減少していました(図3)。さらに、*ptf1a* を発現する神経前駆細胞から作られる細胞の運命を追跡したところ、プルキンエ細胞、介在神経に加えて、興奮性神経細胞である顆粒細胞も生まれることが分かりました。このことは、個々の神経細胞の運命は神経前駆細胞で決まっているのではなく、その後それぞれの細胞のアイデンティティを決める因子が存在していることを示しています。

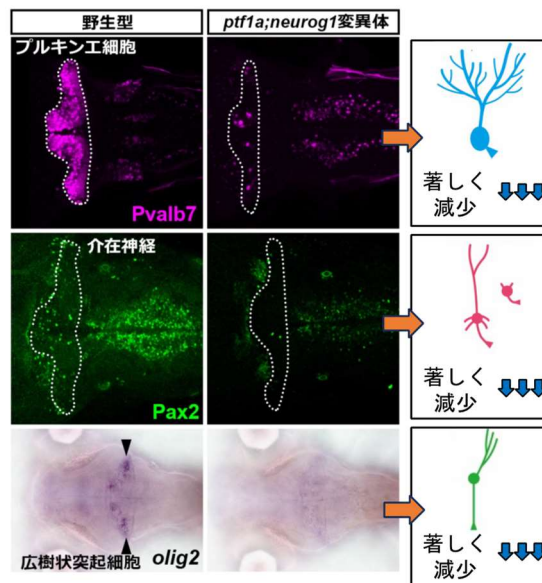


図3 Ptf1aとNeurogenin1を欠損させたゼブラフィッシュ変異体の解析結果

次に、神経前駆細胞からプルキンエ細胞の運命を決定する因子の候補の検索を行いました。これまでの研究から、Foxpファミリー転写制御因子である Foxp1b と Foxp4、

および Skorファミリー転写制御因子 Skor1b と Skor2 の遺伝子が、分化中のプルキンエ細胞に発現していることが報告されていました。これら遺伝子は、*ptf1a* と *neurog1* を両方欠損したゼブラフィッシュでは発現が著しく減弱あるいは消失します。Foxp1b と Foxp4 を両方欠損したゼブラフィッシュでは著しくプルキンエ細胞が減少しましたが、他の小脳神経細胞に異常は認められませんでした。一方、Skor1b と Skor2 の両方を欠損したゼブラフィッシュでは、プルキンエ細胞が完全に消失し、顆粒細胞が増加していました(図4)。

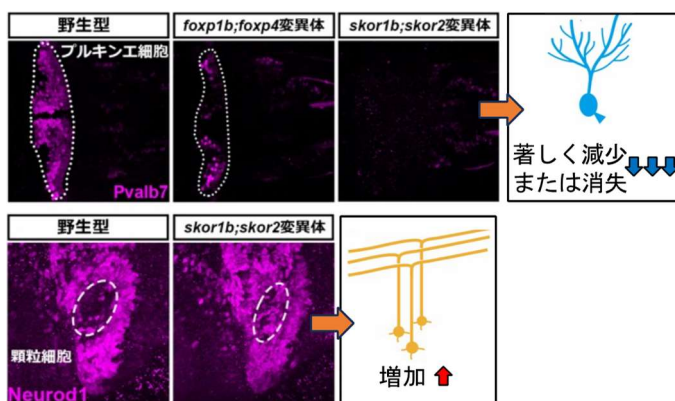


図4 Foxp1bとFoxp4、またはSkor1bとSkor2を欠損させたゼブラフィッシュ変異体の解析結果

Skor2 を、顆粒細胞を産生する *atoh1* を発現する神経前駆細胞に発現させたところ、顆粒細胞の産生を抑制しました。これらの実験結果から、Foxp と Skor ファミリーの転写制御因子が、*ptf1a* と *neurog1* を発現する神経前駆細胞から、プルキンエ細胞を分化する過程で重要な役割を果たしていることが明らかになりました。さらに、Skor1b と Skor2 は顆粒細胞への分化を抑制することでプルキンエ細胞の分化を制御することから、細胞運命の選択を決める上で重要な役割を演じていると考えられました。

【成果の意義】

我々動物の脳には、非常に多くの種類の神経細胞が存在します。これら神経細胞は神経前駆細胞から分化しますが、どのように多様性が生み出され維持されるのかは、未だよく分かっていません。本研究は、小脳の神経前駆細胞は多様な細胞を産み出す能力を持っていることを示しています。神経細胞の運命決定

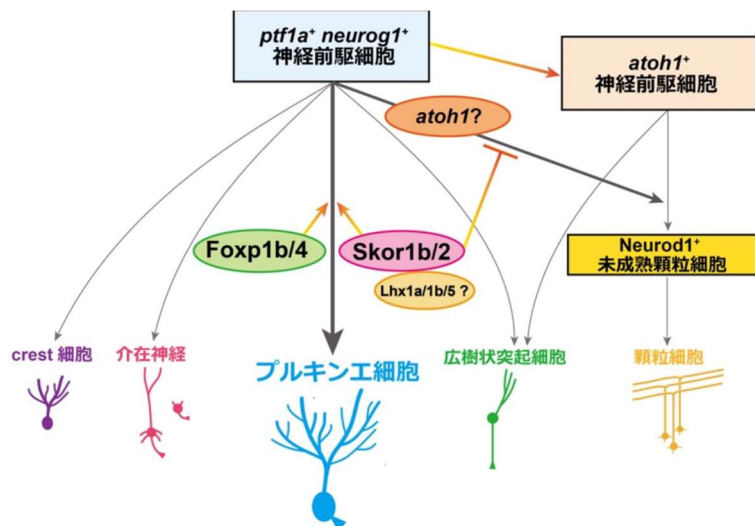


図5 *ptf1a*と*neurogenin1*を発現する神経前駆細胞から小脳神経細胞への分化の分子メカニズム

は、神経前駆細胞の段階ですでに決まるという単純なものではなく、分化の過程で細胞特異化に必要な因子が存在し、細胞の運命を決定し分化に導かれることが明らかになりました(図5)。

神経前駆細胞から神経細胞に分化する過程は複雑な過程です。本研究では、Foxp と Skor ファミリーの転写制御因子、Skor と相互作用をする Lhx ファミリー転写制御因子がプルキンエ細胞分化の鍵となる因子であることを明らかにしました。これらの因子は、我々ヒトを含む哺乳類にも存在しています。ゼブラフィッシュで明らかになった知見は、ヒトを含む脊椎動物全体の小脳発生の理解にもつながるものと思われます。

ヒトでの小脳の異常は種々の疾患で認められています。近年小脳神経回路の異常と自閉症スペクトラムなどの精神疾患の関係が注目されています。本研究で明らかになった小脳発生のしくみやそれに関わる因子が、これらヒト小脳関連疾患の病因や病態の理解に役立つ可能性があります。また、小脳は外傷や梗塞、悪性腫瘍などで、神経細胞を失うことがあります。胎児幹細胞(ES 細胞)や iPS 細胞からプルキンエ細胞を含む小脳神経細胞を試験管内で作成する試みが行われています。本研究で明らかになった知見を用いて、より効率的なプルキンエ細胞の産生が可能となる再生医学への応用へ貢献することが期待されます。

本研究は、2015、2018、2022 年度から始まった日本学術振興会 基盤研究(B) 15H04376、18H02448、22H02631、2017 年度から始まった国立研究開発法人 科学技術振興機構 CREST [オプトバイオ]光の特性を活用した生命機能の時空間制御技術の開発と応用、の支援のもとで行われたものです。

【用語説明】

注1)小脳神経細胞:

小脳には複数種の神経細胞が存在している(図 1)。その内、グルタミン酸を神経伝

達物質として使用している興奮性神経細胞が、顆粒細胞と投射神経細胞(哺乳類では深部小脳神経核神経細胞、ゼブラフィッシュでは広樹状突起細胞と呼ばれる)である。一方 GABA(ガンマ-アミノ酪酸)を神経伝達物質としている抑制性神経細胞が、プルキンエ細胞や介在神経(ゴルジ細胞や星状細胞)である。小脳は、小脳外から二つの情報を受け取る、一つは顆粒細胞が受け取りプルキンエ細胞に伝達する。もう一つは直接プルキンエ細胞が受け取る。プルキンエ細胞は情報を統合して、投射神経を介して小脳外に出力することで、機能を発揮している。介在神経は、この小脳神経回路の機能を修飾している。プルキンエ細胞は情報統合出力を担う重要な神経細胞である。

注2)Foxp と Skor ファミリー転写制御因子:

Foxp1b と Foxp4 は fork head 型転写制御因子で、特異的な配列の DNA に結合し、遺伝子の発現を制御するタンパク質である。Skor1b と Skor2 は、SKI ファミリー転写共抑制因子であり、DNA に直接結合しないが、他の転写因子を介して DNA に結合し、転写を抑制すると考えられている。本研究では、LIM homeobox 型転写因子 Lhx1a、Lhx1b、Lhx5 と相互作用することを見出している。

注3)分化:

生体において生理機能を発揮する細胞の多くは、基になる幹細胞や前駆細胞から産生される。その過程を分化とよぶ。分化過程で幹細胞や前駆細胞は増殖を止め、その細胞が機能を保つための遺伝子・タンパク質を発現するようになる。分化過程の多くは、転写制御因子によって制御されている。

注4)プロニューラル遺伝子:

神経細胞を産生する神経前駆細胞に発現する遺伝子であり、basic helix-loop-helix(bHLH)構造を持ち、特異的な配列の DNA に結合する転写制御因子(タンパク質)をコードしている。神経細胞の分化を制御する遺伝子の発現を制御している。*ptf1a*、*atoh1*、*neurogenin1* がプロニューラル遺伝子である。ゼブラフィッシュに関しては、遺伝子斜体(イタリック)で表し、タンパク質は斜体とせず頭文字を大文字にしている。

【論文情報】

雑誌名:Development

論文タイトル:Foxp and Skor family proteins control differentiation of Purkinje cells from Ptf1a- and Neurogenin1-expressing progenitors in zebrafish

著者:Tsubasa Itoh, Mari Uehara, Shinnosuke Yura, Jui Chun Wang, Yukimi Fujii, Akiko Nakanishi, Takashi Shimizu, Masahiko Hibi

名古屋大学大学院理学研究科

DOI: 10.1242/dev.202546.

Press Release

URL:

<https://journals.biologists.com/dev/article/doi/10.1242/dev.202546/344144/Foxp-and-Skor-family-proteins-control>