



2010年8月6日

慶應義塾大学医学部

慶應義塾大学医学部グループ 脳神経回路形成のカギを解明

—RNA 結合蛋白質・Musashi1 が活躍—

脳神経系の複雑な神経回路網が正しく構築されるためには、回路形成に関わる分子群が神経発生の過程で適切な時期に適切な細胞で発現することが必須となります。これまでの国内外の研究によって回路形成に関わる分子群の存在が次々に明らかにされてきましたが、それらの分子の発現制御機構については未だにあまり解明されていません。特に、DNA から変換された mRNA の情報に基づいて蛋白質がいつ、どこで、どれだけ合成されるかを定める仕組みである翻訳¹⁾調節に関する報告はほとんどありませんでした。今回、慶應義塾大学医学部の岡野栄之教授、桑子賢一郎特別研究助教らの研究グループは、軸索誘導因子²⁾受容体 Robo3 の発現が RNA 結合蛋白質・Musashi1 によって翻訳レベルで適切に制御されることが、小脳とその辺縁神経系との神経回路形成において必須であることを解明しました。本研究は、翻訳調節が神経発生期の回路形成における重要な制御機構の一つであることを明らかにし、さらに将来的な神経再生医療にも役立つ新たな知見を提供すると考えられます。本研究成果は「Neuron」誌(8月12日号)に掲載されます。

1. 研究背景

脳神経系の精巧な神経回路網は、様々な知覚や運動あるいは学習や記憶などの高次脳機能の基盤となります。この神経回路網の実体は、神経細胞の軸索と呼ばれる特殊化した突起構造がインターネットのように無数に張り巡らされたものです。例えば、視覚などの外界からの刺激は神経細胞内で電気信号に変換され、特定の軸索を通して細胞から細胞へとリレーされて脳内へと到達し、やがて脳内の特定の回路網を巡って“情報”として処理されます。このような神経活動が正常に行われるためには、各神経細胞の軸索が特定の標的細胞へと正しく配線されていることが不可欠となります。

神経発生期において、神経細胞から伸びた軸索は、細胞外に存在する軸索誘導因子と呼ばれる分子群によって進路を導かれて標的細胞まで正しく配線されることが知られています。軸索誘導因子は神経細胞の軸索上に存在する軸索誘導因子受容体に結合して神経細胞にシグナルを伝達することで、軸索を誘引あるいは反発させます。近年の研究により、回路形成期の神経細胞は、軸索の進路決定のために軸索誘導因子受容体の発現量を短時間に変動させて細胞外の軸索誘導因子に対する応答性のオン/オフを素早く切り替えていることがわかってきました。通常、DNA の情報は、

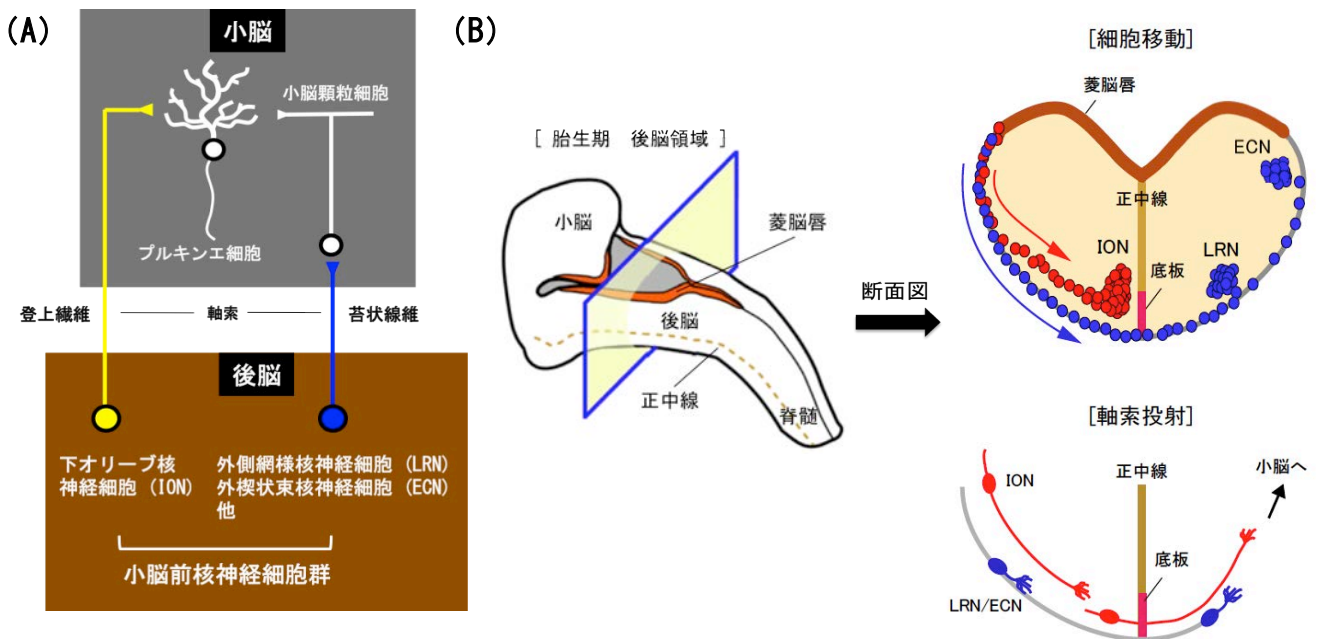
転写と呼ばれる過程を経て、mRNA に変換され、mRNA の情報から蛋白質がつくられます。軸索誘導因子受容体の迅速な発現変動を可能にする分子機構の有力な候補の一つとして、DNA からの転写を介さない RNA の翻訳調節による制御が考えられてきましたが、実際にそれを証明する研究報告はほとんどありませんでした。

今回、岡野教授らの研究グループは RNA 結合蛋白質・Musashi1 欠損マウスを用いて、軸索誘導機構の優れたモデル実験系である小脳前核神経細胞³⁾の軸索の正中線交差⁴⁾を詳細に解析し、神経回路形成における翻訳調節の重要性を示唆する研究成果を得ました。Musashi 1 は、これまで神経幹細胞・前駆細胞のマーカー蛋白質として解析が進んでいましたが、発現分布をより詳しく調べた結果、胎生期の発生過程にある神経細胞でも発現していることがわかり、今回の研究につながりました。

2. 研究成果

<実験モデル神経細胞：小脳前核神経細胞³⁾>

本研究では、小脳前核神経細胞の軸索の正中線交差⁴⁾をモデル実験系として用いました。(図1) 小脳前核神経細胞の軸索は、正中線上の底板から分泌される軸索誘導因子によって制御されて正中線を超え、最終的には小脳へと投射されます。

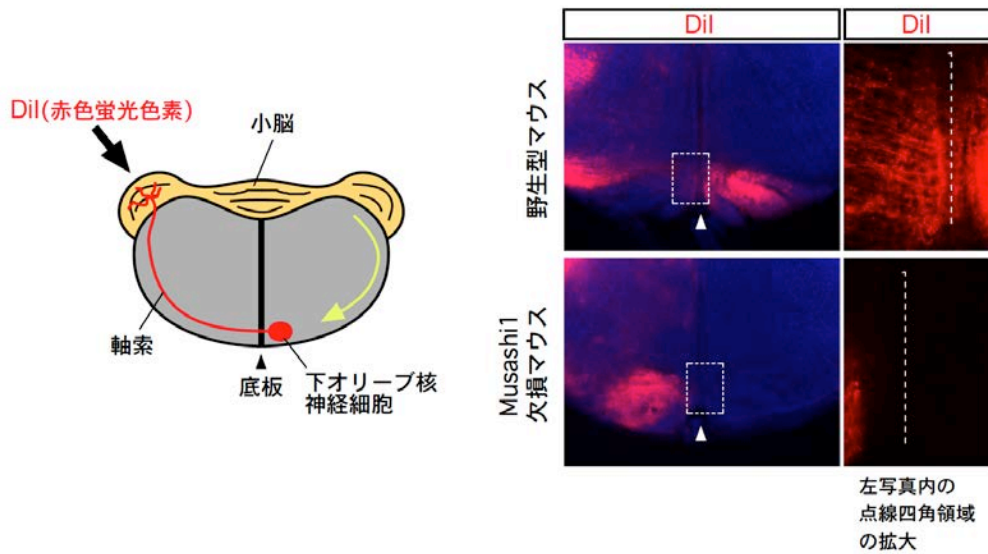


[図 1]

- (A) 下オリーブ核神経細胞(ION)、外側網様核神経細胞(LRN)および外楔状束核神経細胞(ECN)などの小脳前核神経細胞群の細胞体は後脳で神経核を形成しており、それらの軸索は小脳へと投射され、登上繊維あるいは苔状繊維と呼ばれる重要な求心性神経（末梢からの刺激などを中枢へ伝える神経）入力回路を担う。
- (B) すべての小脳前核神経細胞は胎生期に後脳菱脳唇で誕生し、正中線上の底板に向かって軸索を伸ばしながら移動する。すべての小脳前核神経細胞の軸索は正中線を超えて（正中線交差）反対側の小脳へと投射される。底板からは様々な軸索誘導因子が分泌されており、小脳前核神経細胞の正中線交差は、軸索誘導機構の優れた解析系として広く用いられている。

<Musashi1 欠損マウスにおける軸索の正中線交差の異常>

野生型マウスの小脳前核神経細胞の軸索は正中線を超えて小脳へと投射するのに対して、Musashi1 欠損マウスの小脳前核神経細胞の軸索は正中線上の底板を超えることが出来なくなることが明らかになりました。(図2)

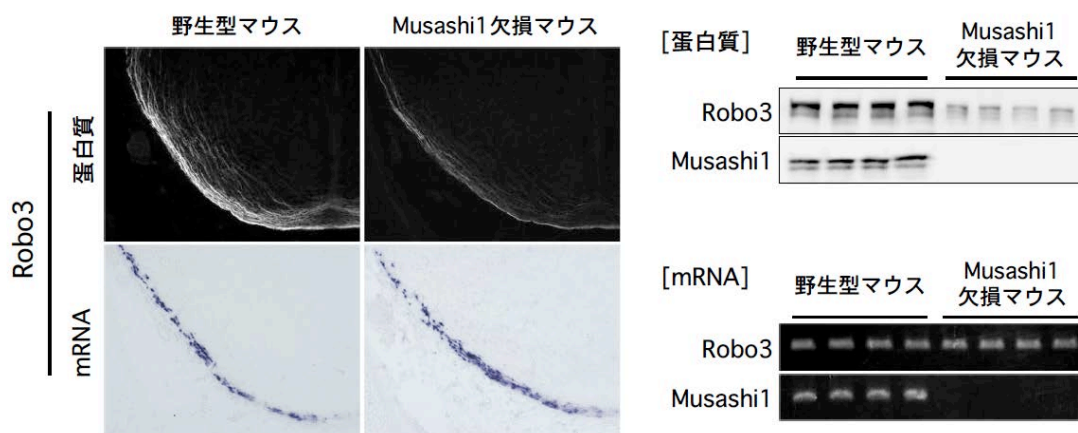


[図 2]

小脳前核神経細胞の一つである下オリーブ核神経細胞 (ION)の軸索投射を可視化するために、小脳に赤色の蛍光標識色素 DiI を注入した。模式図 (左)：野生型マウスでは、下オリーブ核神経細胞は黄色矢印に沿って移動し、その軸索は底板を超えて反対側の小脳へと投射される。実験結果 (右)：野生型マウスでは、正中線底板上 (▲部分、点線) を超える多くの軸索が観察されたが、それらは Musashi1 欠損マウスではほとんどみられなかった。

<小脳前核神経細胞における Musashi1 の標的 mRNA の同定>

Musashi1 欠損マウス的小脳前核神経細胞では、軸索誘導因子 Slit の受容体である Robo3 (別名 Rig-1) の蛋白質量が特異的に減少していることが明らかになりました。一方で、Robo3 の mRNA 量に変動はありませんでした。(図 3)



[図 3]

組織学および生化学的解析の結果、胎生期の Musashi1 欠損マウス的小脳前核神経細胞では、Robo3 の発現量が蛋白質レベルでのみ顕著に低下していた。

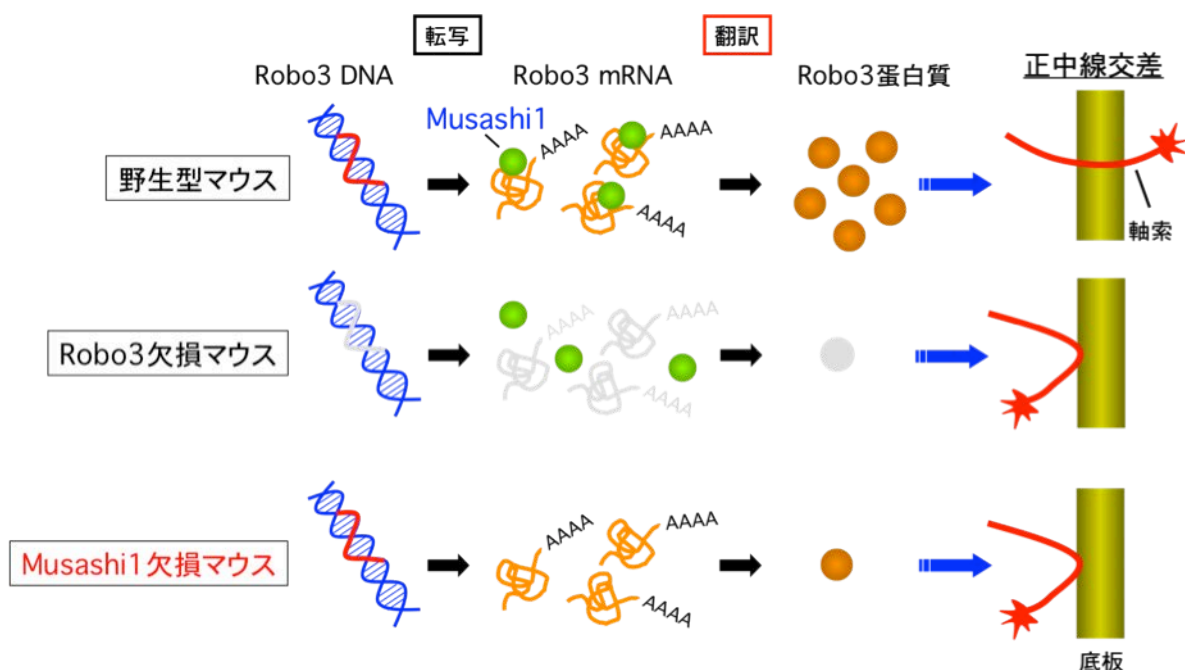
< Musashi1 による Robo3 mRNA の翻訳調節 >

Musashi1 は、RNA 認識モチーフを介して Robo3 mRNA に結合して、蛋白質への翻訳を促進することが明らかになりました。

< Musashi1 欠損マウスにおける異常と Robo3 >

Musashi1 と Robo3 との間に遺伝的相互作用がみられることや、Musashi1 欠損マウスと Robo3 欠損マウスは軸索投射や神経核形成に関して極めて類似した異常を示すことなどから、Musashi1 欠損マウスでみられる軸索の正中線交差の異常は、Robo3 の発現低下に起因する可能性が強く示唆されました。

以上の実験結果から、小脳前核神経細胞の軸索が正中線を超えて正しく小脳へと投射されるためには、Musashi1 による翻訳調節によって Robo3 蛋白質が適切に発現することが重要であることが明らかになりました。(図 4)



[図 4]

野生型マウス :

Musashi1 は、Robo3 mRNA に結合して翻訳を促進し、Robo3 蛋白質量を増加させる。その結果、小脳前核神経細胞の軸索は正中線を超えて小脳へと投射される。

Robo3 欠損マウス :

Robo3 蛋白質が存在しない場合、小脳前核神経細胞の軸索は正中線を超えることが出来ない (Neuron 43, 69-79, 2004)。このことは、小脳前核神経細胞の軸索の正中線交差において Robo3 が極めて重要な働きをもつ軸索誘導因子受容体であることを示唆する。

Musashi1 欠損マウス :

Musashi1 が存在しない場合、Robo3 mRNA の翻訳が促進されず、Robo3 蛋白質量は減少する。その結果、小脳前核神経細胞の軸索は正中線を超えることが出来なくなる。

3. 今後の研究への期待

本研究成果は、神経回路形成における多様な制御機構の一端を明らかにするものであり、将来的に、高次脳機能の分子基盤の解明や神経再生医療における神経回路の再形成のための重要な一歩となることが期待されます。

4. 論文について

タイトル：“Neural RNA-binding protein Musashi1 controls midline crossing of precerebellar neurons through post-transcriptional regulation of Robo3/Rig-1 expression”

掲載雑誌：「Neuron」（2010年8月12日号）

<用語解説>

1) 翻訳調節

DNA にコードされた遺伝情報が転写と呼ばれる過程によって mRNA に変換されたのち、その mRNA の塩基配列情報に基づいてアミノ酸が重合して蛋白質が合成される過程を翻訳という。翻訳の効率を変えることで蛋白質の発現量を制御する機構を翻訳調節という。

2) 軸索誘導因子

発生期の特定の領域において細胞表面に局在するか細胞外環境に分泌された形で存在し、軸索の進行方向を決定する分子群。神経細胞で発現する特異的な受容体（軸索誘導因子受容体）を介して神経細胞へシグナルを伝達し、伸展中の軸索を引き寄せるかあるいは遠ざける。後脳底板で発現している軸索誘導因子の主なものとして Netrin や Slit ファミリーが知られており、それらの受容体である DCC や Robo などが神経細胞側で発現している。

3) 小脳前核神経細胞（図1参照）

下オリーブ核神経細胞、外側網様核神経細胞および外楔状束核神経細胞などから構成される後脳神経核細胞群の総称。軸索は小脳のプルキンエ細胞あるいは小脳顆粒細胞へと投射され、それぞれ登上繊維、苔状繊維と呼ばれる小脳への重要な求心性神経入力繊維である。発生期の細胞移動や軸索誘導機構のモデル細胞として良く研究されている。

4) 正中線交差（図1参照）

発生期の後脳や脊髄などの神経細胞の軸索が腹側部の正中線上に存在する底板と呼ばれる領域を超えて反体側へと投射される現象。底板からは軸索を誘引あるいは反発する軸索誘導因子が多く分泌されており、それらの因子やその受容体の発現量のバランスによって軸索が底板を超えるかどうかが決定的される。このように、底板は軸索がそこを通過できるかどうかの“チェックポイント”として機能しており、発生期の軸索はこのような“チェックポイント”を順番に超えていくことで最終的に正しい標的細胞へと辿り着く。