



分野: 生命科学・医学系 キーワード: 神経科学、解剖学、神経細胞、神経発生、神経回路形成

相互反発分子によって脳の配線はスッキリつながる ～大脳皮質が機能領域ごとに区分され接続する仕組みを解明～

【研究成果のポイント】

- ◆ 大脳皮質には様々な領域があり、機能ごとに区分されているが、それぞれの神経回路が混線することなく、脳の離れた領域につながる仕組みは不明であった
- ◆ 細胞膜タンパク質であり、結合すると両方向に反発性のシグナルが伝わる相互反発分子 EphA7(エフエー7)と EfnA5(エフリンエー5)^{※1}が脳領域ごとに区分された神経回路形成を制御することを発見
- ◆ 神経回路形成異常を一因とする疾患(群)の理解や脳内回路再生による治療法開発への応用に期待

❖ 概要

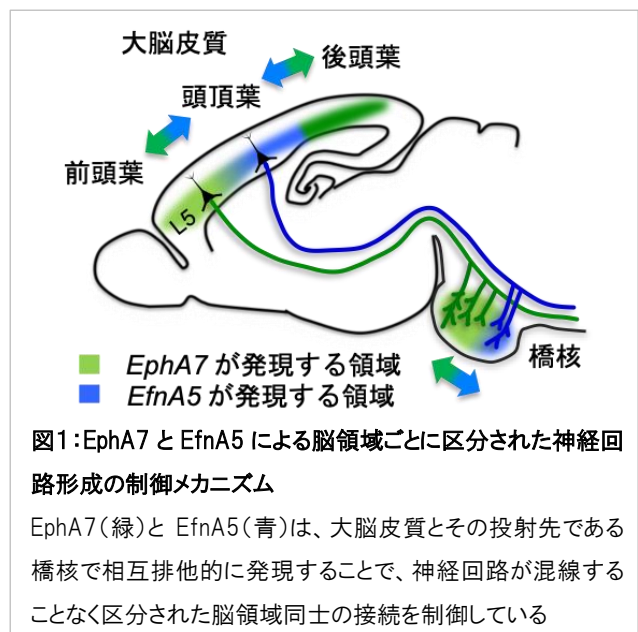
大阪大学大学院医学系研究科の猪口徳一助教(神経機能形態学)(研究当時[現:福井医療大学])、連合小児発達学研究所の佐藤真教授(医学系研究科 神経機能形態学(兼任))らの研究グループは、大脳と小脳を連動させるのに重要な中継場所である、橋(きょう)へ大脳皮質から伸びる神経回路(皮質橋路^{※2})がつくられる過程で、大脳皮質の機能領域ごとに神経回路を区分して接続する仕組みを明らかにしました。

大脳皮質は、運動や体性感覚など、機能によって異なるさまざまな領域(機能領域^{※3})があり、それぞれの神経細胞から伸びた軸索は、由来する皮質領域に対応した橋核の特定の領域へ回路を接続することが知られていました。しかしながら、脳の離れた領域を結ぶ神経回路が混線すること無く正確に区分されて標的脳領域につながる仕組みはよくわかっていませんでした。

今回、研究グループは、神経細胞の細胞膜に存在し、相互に反発する分子である EphA7 と EfnA5 が、大脳皮質と橋核の両方で領域特異的かつ相互排他的に発現していることに着目しました。EphA7 と EfnA5 は、それぞれ受容体とそれに結合するリガンドで、隣り合った細胞にそれぞれの分子が発現し、結合した場合は、それぞれの分子を介して両方の細胞内に反発性のシグナルが伝達され、細胞は互いに離れるように働くことが知られています。ストライプ状に相互反発分子をプリントした基質上で、大脳皮質全長スライスを培養する手法や、マウス胎児脳内での遺伝子操作技術を用いて、皮質橋路の回路形成における EphA7 と EfnA5 の機能解析を行いました。その結果、これら分子の相互反発作用が、大脳皮質と橋核それぞれにおける機能領域の区分化を制御するとともに、区分化された領域同士の接続を制御し、正確な回路形成を可能にしていることがわかりました(図1)。

これにより、脳の配線である神経回路の不要な混線を防ぎ正確につなぐ仕組みの理解や、神経回路形成異常を一因とする疾患(群)の病態解明や脳梗塞後の新たな機能回復法の開発につながることを期待されます。

本研究成果は、米国科学誌「The Journal of Neuroscience」に6月3日(木)午前6時(日本時間)[6月2日(水)午後5時(米国東部時間)]に掲載されました。

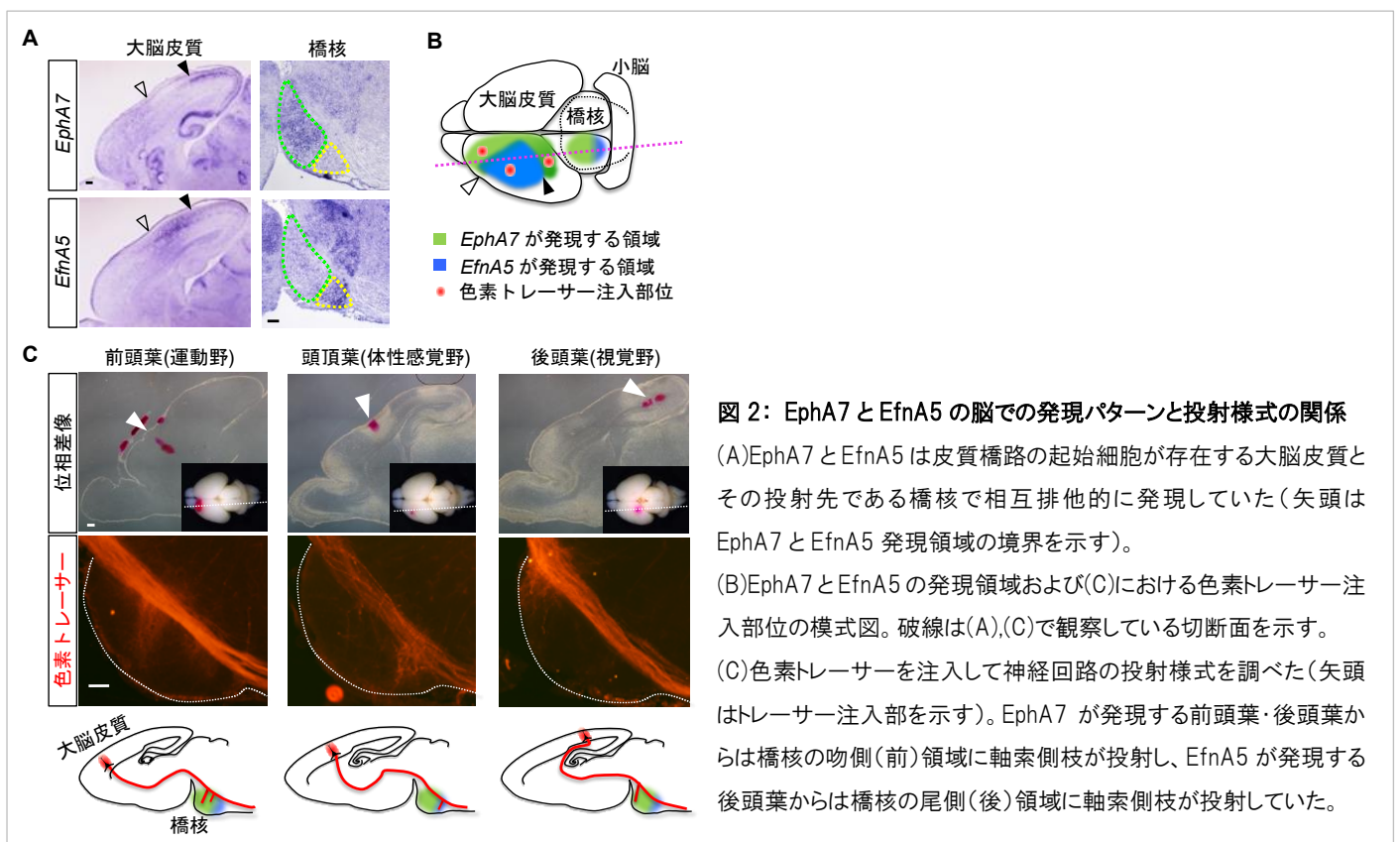


❖ 研究の背景

脳が正常に働くためには、神経回路が情報の種類や質によって区分され、適切な相手と接続する必要があります。大脳から小脳への出力回路である皮質橋路は、大脳皮質から脊髄へと伸びる軸索の束(後の皮質脊髄路)の途中から枝分かれした軸索側枝^{※4}が橋核へつながることで回路がつけられます。このとき、運動野・体性感覚野・視覚野など、由来する皮質領野に対応した橋核内の特定の領域へと軸索側枝が投射し、回路を接続することが知られていました。しかし、このように神経回路が他の領域に入り込むこと無く目的の相手とスッキリと接続する仕組みはよくわかっていませんでした。

❖ 本研究の成果

研究グループは、神経回路が形成される時期のマウス大脳皮質において、EphA7 が前頭葉(運動野のある領域)と後頭葉(視覚野のある領域)に、EfnA5 が頭頂葉(体性感覚野のある領域)に相互排他的に発現していること、さらに大脳から小脳への出力回路の接続先である橋核においても、これら分子が相互排他的に発現していることを発見しました。そして、神経回路を可視化する色素トレーサーを大脳皮質の各領域に注入して橋核でのつながり方を調べると、反発作用を持つ結合相手の発現する領域を避け、同じ分子を発現している領域同士がつながっていることがわかりました(図 2)



続いて、ストライプ状に EfnA5 をプリントした基質上で、大脳皮質の全長スライスを培養する手法を独自に確立し、大脳皮質の各領域から伸びる軸索の反応を調べました。すると、EphA7 が発現している前頭葉と後頭葉から伸びた軸索は EfnA5 をプリントした領域を避けて伸び、一方、EfnA5 が発現している頭頂葉から伸びた軸索は、ストライプに影響されること無く伸びることがわかりました(図 3)。

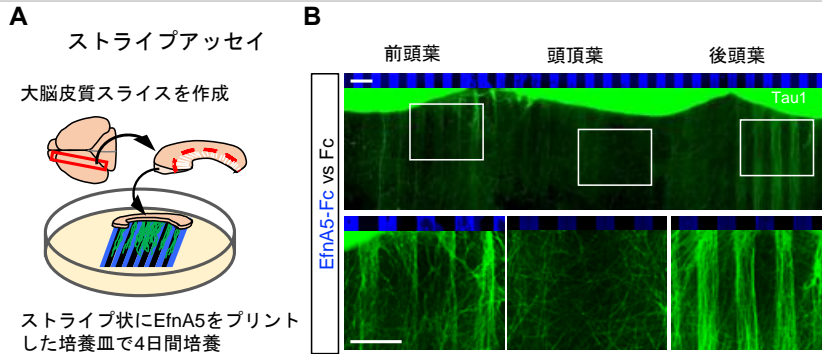


図 3: 大脳皮質全長スライスを用いたストライプアッセイ

(A)生後 0 日のマウス脳より大脳皮質の前頭葉から後頭葉までの全長を含む組織スライスを作成し、EfnA5 をストライプ状にプリントした基質上で培養を行った。
(B)EphA7 の発現している前頭葉・後頭葉から伸びた軸索は、EfnA5 のストライプを避けるように軸索が伸びた。EfnA5 の発現が占める頭頂葉から伸びた軸索はストライプに影響されることなく伸長した。

そこでさらに、生体内の神経回路(皮質橋路)形成において実証するために、マウス胎児脳内での遺伝子操作技術を用いて、皮質橋路の回路形成における EphA7 と EfnA5 の機能解析を行いました。大脳皮質前頭葉で EphA7 の発現を減らすと、そこから伸びた軸索は本来つながらないはずの橋核の EfnA5 を発現している領域に侵入し、同様に、大脳皮質頭頂葉で EfnA5 の発現を減らすと、そこから伸びた軸索は橋核の EphA7 を発現する領域へと侵入しました(図4)。さらに、ゲノム編集技術を用いて作製した EphA7 遺伝子の発現しないノックアウトマウスを調べると、橋核へ伸びる軸索側枝のつながり方が乱れることや、大脳皮質や橋核において EfnA5 を発現する領域が、本来 EphA7 の発現している領域にまで広がることがわかりました。

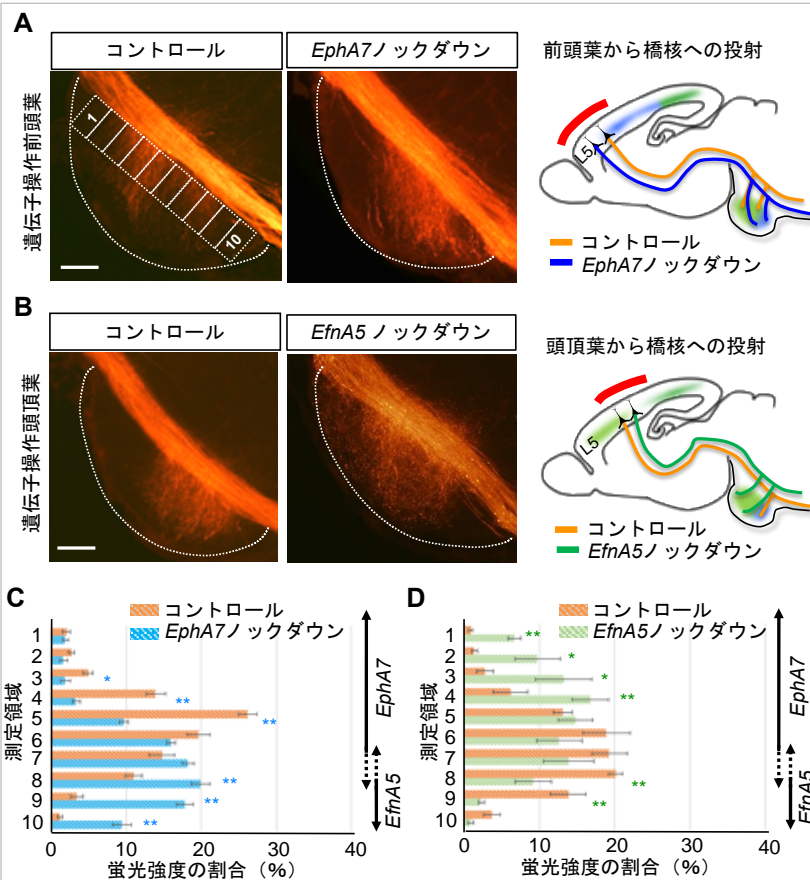


図 4: EphA7 と EfnA5 のノックダウン実験

(A)大脳皮質前頭葉で EphA7 の発現を抑えると (EphA7 ノックダウン)、そこから伸びた軸索は EfnA5 の発現している橋核の尾側領域に侵入した。
(B)大脳皮質頭頂葉で EfnA5 の発現を抑えると (EfnA5 ノックダウン)、そこから伸びた軸索は EphA7 の発現する橋核の吻側領域へと侵入した。
(C)(A) の結果の定量データ。橋核を吻尾(前後)軸に沿って10領域に区分し、神経回路に発現させた蛍光タンパク質の蛍光強度を測定することで軸索側枝の投射領域を定量した(グラフ右側に、橋核での EphA7 と EfnA5 の発現領域を示す)。コントロールと比較して、EphA7 ノックダウンにより EfnA5 発現領域に軸索側枝が侵入した。
(D)(B) の結果の定量データ。コントロールと比較して、EfnA5 ノックダウンにより EphA7 発現領域に軸索側枝が侵入した。

以上の結果から、EphA7 と EfnA5 が相互反発作用によって大脳皮質と橋核それぞれにおける機能領域の区分化を制御していること、さらに、区分化された領域同士の接続を制御し、正確な回路形成を可能にしていることがわかりました。

Press Release

❖ 本研究成果が社会に与える影響（本研究成果の意義）

本研究成果により、大脳皮質と橋核をつなぐ神経回路は、相互排他的な分子のはたらきによって、機能領野ごとに区分された投射パターンを形成することが明らかになりました。このモデルは、単一の機能領野内の神経回路において、軸索ガイダンス分子の濃度勾配によって形成されるトポグラフィックな投射様式とは異なり、複数の機能領野ごとに区分された回路の形成様式を示すものです。EphA7 と EfnA5 でみられるような軸索ガイダンス分子の相互排他的な発現様式は霊長類にいたるまで種を超えて保存されており、本研究で示された、相互に反発する分子が脳の機能領野の区分と、機能領野ごとに区分された領域間の回路形成の誘導に働くという原理は、進化的にも保存され、なおかつ様々な脳領域間の接続に共通である可能性があります。本研究成果は、脳の配線である神経回路の不要な混線を防ぎ正確につなぐ仕組みの理解や、混線が原因となる運動機能障害などの病態解明、さらには傷害を受けた大脳皮質内および大脳皮質から伸びる神経回路に対する回路再構築による治療方法の開発につながることで期待されます。

❖ 特記事項

本研究成果は、米国科学誌「The Journal of Neuroscience」に6月3日(木)午前6時(日本時間)[6月2日(水)午後5時(米国東部時間)]に掲載されました。

【タイトル】 “Mutually repulsive EphA7-EfnA5 organize region-to-region corticopontine projection by inhibiting collateral extension”

【著者名】 Tokuichi Iguchi^{1,2,3}, Yuichiro Oka^{1,2,4}, Misato Yasumura¹, Minoru Omi², Kazuki Kuroda², Hideshi Yagi², Min-Jue Xie^{2,4}, Manabu Taniguchi¹, Martin Bastmeyer⁵, Makoto Sato^{1,2,4,6,7}

【所属】 1.大阪大学 大学院医学系研究科 解剖学講座(神経機能形態学)

2.福井大学 医学部形態機能医科学講座組織細胞形態学・神経科学領域

3.福井医療大学 保健医療学部看護学科

4.大阪大学 大学院連合小児発達学研究所こころの発達神経科学講座(分子生物遺伝学)

5.カールスルーエ工科大学(Department of Cell and Neurobiology, Zoological Institute)

6.大阪大学 大学院生命機能研究科

7.福井大学 こどものこころの発達研究センター

なお、本研究は、科学研究費補助金基盤研究(B)、基盤研究(C)、若手研究(B)、挑戦的萌芽研究、による支援を受けて行われました。

❖ 用語説明

※1 EphA7(エフエー7)とEfnA5(エフリンエー5)

それぞれエフ受容体ファミリーとエフリンファミリーに属するタンパク質で、共に細胞膜に存在する。受容体とそれに結合するリガンドとして知られているが、シグナル伝達の方向は一方向ではなく両方向性に伝わる。つまり、隣り合った細胞にそれぞれの分子が発現し、結合した場合は、それぞれの分子を介して両方の細胞内に反発性のシグナルが伝達され、細胞は互いに離れるように働く。

※2 皮質橋路

大脳皮質の様々な領域から出力して橋と呼ばれる脳領域の底部にある橋核に接続する回路。大脳皮質と小脳皮質を直接結ぶ神経回路はなく、この回路が両者の連関に重要な役割を果たす。橋核は大脳と小脳を結ぶ中継核として、小脳へと神経回路を接続する。大脳皮質からの運動指令のコピーを小脳に伝え、運動がなめらかに、正確に行うことができるように働く。また、大脳皮質からは運動野以外にも体性感覚野や視覚野からも神経回路が接続しており、運動機能以外にも様々な脳機能に関与していることが示唆されている。



大阪大学
OSAKA UNIVERSITY

国立大学法人 大阪大学

〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 1-1

TEL: 06-6877-5111 (代)

www.osaka-u.ac.jp

Press Release

※3 機能領野

大脳皮質は、運動や体の感覚など、特定の機能を担う領域に区分されており、その区分された領域を機能領野とよぶ。また、大脳皮質と回路を作っている他の脳領域についても特定の機能に関する領域ごとに区分されており、関連の強い機能領野と神経回路を形成している。視覚や嗅覚といった単一の機能領野と関連脳領域との結合では、軸索ガイダンス分子の濃度勾配にしたがったトポグラフィックな回路接続様式が知られているが、複数の機能領野からの出力回路が区分されて標的へ接続する仕組みはよくわかっていない。

※4 軸索側枝

神経細胞は軸索と呼ばれる細長い一本の突起を伸ばし、他の神経細胞と接続することで脳内の神経回路が作られる。一部の軸索は、1対1ではなく、軸索の途中から“軸索側枝”とよばれる枝を伸ばすことで、複数の標的に回路を作ることができる。皮質橋路では、大脳皮質から脊髄へ伸びた皮質脊髄路軸索の途中から軸索側枝が橋核に伸び、橋核の神経細胞に接続することで回路が作られる。

❖ 本件に関する問い合わせ先

<研究に関すること>

佐藤 真(さとう まこと)

大阪大学 大学院 医学系研究科 解剖学講座(神経機能形態学)・同連合小児発達学研究所 こころの発達神経科学講座(分子生物遺伝学) 教授

TEL: 06-6879-3220 FAX: 06-6879-3229

E-mail: makosato@anat2.med.osaka-u.ac.jp

<報道に関すること>

大阪大学大学院医学系研究科 広報室

TEL: 06-6879-3388 FAX: 06-6879-3399

Email: medpr@office.med.osaka-u.ac.jp