

ニューロンの発生と老化の分子機構



吉川 和明*

Molecular mechanisms of generation and senescence of neurons

Key Words : Neuronal differentiation/Post-mitotic cells/Embryonal carcinoma cells/Alzheimer's disease/Brain evolution

ヒトの脳では数百億個ものニューロン(神経細胞)が複雑な回路網を形成し、情報の処理と統合を行っている。脳のニューロンは外界からの情報を処理したり、運動の制御をするほか、判断や思考などの高次の機能を司る最も基本的な素子である。しかし、ニューロンがどのような機構で生まれ、老化し、そして死んで行くかについての知識は余りにも乏しいのが現状である。

ニューロンは分化すると同時に分裂能を完全に失い、分裂終了細胞(post-mitotic cell)となる。したがって、ニューロンは誕生すると、死にいたるまで100年以上も生き得る潜在能力をもった、極めて長寿の細胞である。また、ニューロンは非分裂細胞であるため、その総数は胎児期に決定される。ニューロン数は脳の情報処理能力に比例するため、脳が進化によって大きくなることで、人類が知能を獲得したともいえる。そのため、ニューロンの発生分化の機構は脳の情報処理能力を考える上でも重要な研究課題といえる。

私たちは脊椎動物、特に哺乳類の脳ニューロンの発生分化を司る機構を、主として培養細胞系を用いて研究している。また、ニューロンが

発生分化し、やがて老化による死を起こすまでの過程を広義の発生現象と考え、老化によるニューロン死、特にその病態として知られているアルツハイマー病の発症機構をも視野に入れた研究を行っている。

以下に私たちの行っている研究について具体的に述べてみたい。

ニューロンの発生分化の分子機構

胚性がん細胞(embryonal carcinoma cell)と呼ばれる細胞は多分化能、すなわちニューロン、筋肉、骨、表皮、消化器などの細胞に分化することができる。胚性がん細胞は培養条件下で分化誘導物質、たとえばレチノイン酸で処理することによって、ニューロンやグリア細胞に分化させることができる。この発生過程は脊椎動物胚における神経系のそれと類似しており、脳発生 of *in vitro* モデル系として使用できる。たとえば、胚性がん細胞から分化するニューロンは分裂終了細胞であり、再び増殖することはない。

私たちは胚性がん細胞をレチノイン酸で神経分化させた際に発現が誘導される遺伝子を見いだした。その塩基配列を決定し、それがコードする蛋白質を推定したところ、既知の遺伝子や蛋白質の配列と全く類似性がなかった。そこでその蛋白質を *necdin* と名付けた。次に *necdin* に対する抗体を作製して、免疫組織化学によって細胞内局在を調べたところ、*necdin* はニューロンの核に存在することがわかった。また、*necdin* の遺伝子発現をマウスの発生中の胚で

* Kazuaki YOSHIKAWA
1950年9月8日生
昭和50年京都府立医科大学医学部
卒業
現在、大阪大学蛋白質研究所、蛋白質機能制御部門、教授、医学博士、分子神経生物学
TEL 06-879-8621
FAX 06-879-8623



調べたところ、ニューロンに分化する前の幹細胞には発現しないが、ニューロンに分化した直後から発現することが明らかになった。

一方、necdin 遺伝子の発現はニューロン特異性が高いため、その発現調節機構は興味ある研究対象である。そこで、necdin 遺伝子の構造を解析したところ、遺伝子上流の発現調節領域に、ニューロンでの発現を制御する部分が存在することが明らかになった。現在、その配列とそれに結合する転写調節因子を詳しく検討することで、ニューロンの発生分化を制御する分子機構を明らかにする試みを行っている。また、necdin の生理機能の解明は現在進行中であるが、ニューロンが分裂を終了する機構に関わることを示唆する実験データが集まりつつある。現在、ニューロンが分裂を永久に停止する分子機構についての知見は殆ど皆無である。したがって、necdin がその分子機構に迫る糸口になるのではないかと期待している。

ニューロン老化の分子機構

一個のニューロンは、個体の寿命よりさらに長く生き得る生体内で最も長寿の細胞である。しかし、ヒトの脳ニューロンが早期に大量に老化し、死滅する疾患がある。それがアルツハイマー病と呼ばれる神経変性疾患である。いいかえれば、アルツハイマー病は脳の老化が促進した状態と考えられるため、広義のニューロン発生の終局としての老化による死を研究する上で、示唆に富む疾患である。

アルツハイマー病の原因物質としては、アルツハイマー病の脳に沈着するアミロイド線維の主構成成分である β 蛋白質が注目されている。この蛋白質はアミロイド蛋白質前駆体 (APP) の異常なプロセッシングで生じると考えられている。この β 蛋白質が脳の細胞間隙に沈着することが、ニューロン死の直接の原因であるとの考えのもとに、国内外で膨大な研究が行われている。

私たちは APP 遺伝子をニューロンやグリア細胞に導入して、APP を細胞内に過剰に発現させた。すると、細胞内で APP の代謝異常が起こり、その結果、細胞が死滅することを見

だした。この実験結果から、私たちはアルツハイマー病ではニューロン内部での APP の代謝異常によってニューロンが死滅するという新しい考え方を提出した(「内部崩壊仮説」)。このようにニューロンに遺伝子を導入して培養細胞モデルを用いると、脳内で起こっている病態の解析のみならず、その予防法や治療法の開発に応用できるものと考えている。

ニューロンへの遺伝子導入法の開発

脳では他の組織に比べると多数の遺伝子が発現している。これまで多くの遺伝子がクローン化されてきたが、脳にはまだまだ未知の遺伝子が多数存在するものと推定される。未知の遺伝子がクローン化された場合、その機能を調べるための一つの研究方法として、その遺伝子をニューロンに効率よく導入して、その形質の変化を調べることがあげられる。また、既知の遺伝子であっても、それを過剰発現させたり、逆に発現を抑制することで、その機能や病理作用を調べることができる。一方、分化したニューロンは前述のように、分裂を終了した細胞であるため、通常の遺伝子導入法では遺伝子を効率よく発現させることができない。

そのための方法として私たちは2つの方法を試みている。一つはニューロンに特異的に発現している遺伝子の構造を解析し、その制御配列を組み入れた発現ベクターを作製する。この発現ベクターに目的の遺伝子を挿入して、培養条件下のニューロンの前駆細胞に導入し、分化したニューロンだけに発現させるものである。上記の necdin の遺伝子の制御配列は、この目的に用いることができる。この発現ベクターはマウス、アフリカツメガエル、ゼブラフィッシュなどの動物受精卵に導入して、in vivo のニューロンに発現させることも可能である。もう一つの方法として、最近遺伝子治療などに応用されているアデノウイルスベクター系を用いることがあげられる。このベクター系を用いると、分裂終了したニューロンにも100%の効率で遺伝子を導入することが可能になる。私たちはこの系を用いて、ニューロンの前駆細胞に未知遺伝子を導入し、ニューロン分化への影響をしらべ

たり、また、分化したニューロンに過剰発現させて、形質がどのように変化するかを検討する系として開発中である。

脳の情報処理能力を反映するニューロン数は、ニューロンの発生分化の持続期間で決定される。したがって、ヒトではその期間の延長が特定の脳部位で起こり、大脳領域(大脳皮質連合野)内にヒトに特有の新しい領域が付加され、他の霊長類から袂を分かったものと推定される。上記のアルツハイマー病で選択的に侵される脳部

位は、まさに進化の終局につくられた領域と一致する。つまり、アルツハイマー病はヒトが最も進化した脳をもったが故に背負った業ともいえるものである。

脊椎動物脳の形成過程の分子機構の研究は、分子というミクロの変化がマクロの形態変化につながる可能性を秘めている。さらには知能や精神の獲得に至るプロセスの分子的背景の解明も、その延長線上にあるものと思われる。私たちは研究のゴールを、その点に置いている。

