



東北大学



平成 22 年 5 月 6 日
東北大学脳科学グローバルCOE
東北大学大学院医学系研究科

生体内でのニューロン新生の制御機構の一端を解明

—Eph/ephrin シグナルが海馬ニューロン新生と微小血管形成に関わる—

東北大学大学院医学系研究科の大隅典子教授の研究グループは、軸索の伸長などに関わる Ephrin-A5 (エフリン A5)^{*1} という分子の遺伝子を欠損した成体マウスにおいて、海馬歯状回におけるニューロン新生が有意に低下していることを発見、生体内でのニューロン新生の制御の一端の解明に成功しました。

かつて大人になってからは増えないと信じられてきた脳の神経細胞 (ニューロン) は、ほ乳類の成体脳でも、脳室下帯や海馬歯状回など一部の場所で活発に新生されていることが明らかになっています。特に海馬歯状回でのニューロン新生は記憶や学習行動に関係していること、またニューロン新生の異常と行動異常に相関があることが明らかとなっており、その制御機構の解明が待たれています。

今回、研究グループは、細胞外膜分子の一つである Ephrin-A5 に着目し、*Ephrin-A5* 遺伝子を欠損した成体マウス (*Ephrin-A5*^{-/-} マウス) の海馬歯状回におけるニューロン新生を解析し、ニューロン新生が減少していることを明らかにしました。Ephrin-A5 は血管のサイズを調節することによってニューロン新生を制御していることが示唆されています。

本研究成果は、米国科学誌 STEM CELLS のウェブ版に先行公開され、間もなく 5 月号の表紙を飾ります。

【研究の背景】

我々の脳はばく大な数の神経細胞 (ニューロン) とその 10 倍はあると考えられているグリア細胞 (アストロサイト^{*2}、オリゴデンドロサイトなど) から構成されています。これらの細胞の多くは胎生期に生み出されたものですが、成体でもその数は減少するものの、新しいニューロンは絶えず生み出され続けています (ニューロン新生)。哺乳類の成体脳では、ニューロン新生が起こる部位として、側脳室に面した脳室下帯と、記憶の中核である海馬歯状回の顆粒細胞下帯が知られています (図 1)。これらの場所で生み出された新生ニューロンは、多くは細胞死を起しますが、一部は生存し続けて成熟ニューロンへと分化します。

近年、生後脳海馬歯状回におけるニューロン新生が記憶や学習行動に関係していること、またニューロン新生の異常と行動異常に相関があることが明らかとなっていることから、生体内においてニューロンがどのような機構により制御されているのかを明らかにすることが求められています。

研究グループは今回、細胞外膜分子の一つである Ephrin-A5 に着目し、EphrinA5 遺伝子を欠損した成体マウス (*Ephrin-A5*^{-/-} マウス) の海馬歯状回におけるニューロン新生を解析したところ、野生型マウスと比較して有意にニューロン新生が低下していることを見出しました。

【研究内容】

本研究では、まず始めに正常な成体マウスを用いて *in situ hybridization*^{*3}による発現解析を行いました。その結果、*Ephrin-A5* 遺伝子が海馬歯状回において成熟したニューロンの他、神経幹細胞や星状膠細胞 (アストロサイト) にも発現していることを見出しました。次に、免疫組織化学^{*4}により Ephrin-A5 タンパク質の局在を調べたところ、海馬歯状回を走行する毛細血管を包むアストロサイトの仮足部分に多く局在していることが明らかとなりました (図2)。野生型マウス及び *Ephrin-A5*^{+/+} マウスで、海馬歯状回を走行する毛細血管の形態を調べたところ、*Ephrin-A5*^{+/+} マウスでは野生型マウスと比較して、有意に細い血管が増加していることが明らかになりました (図3)。毛細血管を構成する血管内皮細胞では、Ephrin-A5 の受容体である EphA4^{*5}が発現していることから、アストロサイトの Ephrin-A5 は血管内皮細胞に発現している EphA4 との相互作用により毛細血管のサイズを制御している可能性が考えられます。次に、このような表現型を示す *Ephrin-A5*^{+/+} マウスを用いてニューロン新生を調べました。野生型マウス及び *Ephrin-A5*^{+/+} マウスに BrdU^{*6}を投与し、投与一日後と一ヵ月後における BrdU を取り込んだ細胞の数を比較したところ、*Ephrin-A5*^{+/+} マウスでは、投与後一日では約 10%の低下が、また一ヵ月後では約 30%の低下が見られました (図4)。また、新生ニューロンの生存率を BrdU 投与後 1、2、3、4 週目で比較すると 3 週目から 4 週目にかけて *Ephrin-A5*^{+/+} マウスで有意に低下していることが明らかになりました。このことから Ephrin-A5 は神経幹細胞の増殖および新生ニューロンの生存に重要な役割を担っていることがわかります。

近年、ニューロンの新生および維持には、毛細血管やアストロサイトからなる微小環境が重要であると考えられています。*Ephrin-A5*^{+/+} マウスでは、海馬歯状回においてニューロン新生の異常のほか毛細血管のサイズの低下が見られたことから、Ephrin-A5 は血管のサイズを調節することによってニューロン新生を制御していることが考えられます。

【今後の展開】

生体内においてニューロン新生がどのように制御されているのかを明らかにすることは、さまざまな精神神経疾患の分子基盤を考える上で極めて重要な意義を持っており、今回明らかになった Ephrin-A5 の機能は、ニューロン新生と毛細血管やアストロサイトからなる微小環境との関係を考える上で一石を投じるものと考えられます。

今後は、脳循環系を薬理的に操作することなどによってニューロン新生がどのように影響をうけるか、またそれと行動との関連を調べることにより、脳血管の制御とニューロン新生の関係が明らかになると期待されます。

※本成果は、独立行政法人科学技術振興機構戦略的創造研究推進事業チーム型研究 (CREST) 研究領域：「脳の機能発達と学習メカニズムの解明」(研究総括：津本 忠治 (独) 理化学研究所脳科学総合研究センター グループディレクター) の、「ニューロン新生の分子基盤と精神機能への影響の解明」(研究代表者：大隅 典子 (東北大学 大学院医学系研究科 教授))、および、文部科学省グローバル COE プログラム (脳神経科学を社会へ還元する教育研究拠点、代表者：大隅典子 東北大学大学院医学系研究科教授) の支援によって得られました。

【図及び説明】

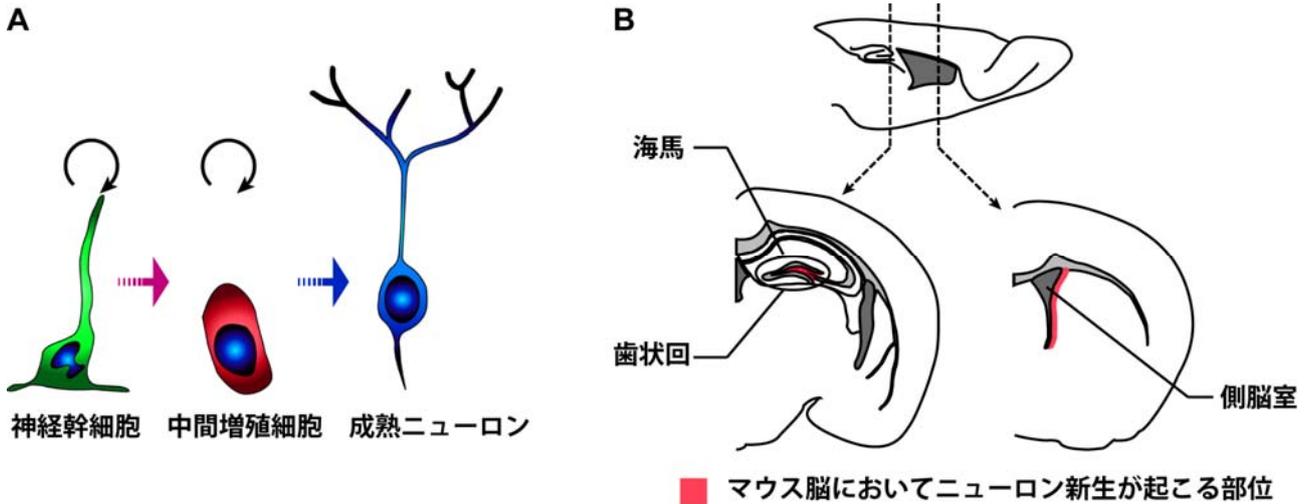


図1 成体脳におけるニューロン新生

A) ニューロン新生の過程。神経幹細胞の増殖により産み出された新生ニューロンは、中間増殖細胞という中間段階を経て、成熟したニューロンへと分化する。B) マウス成獣におけるニューロン新生。マウス成獣では、ニューロン新生は2つの部位で起こる。一つは側脳室周囲の脳室下帯、もう一つは海馬歯状回の顆粒細胞下帯で起こる。

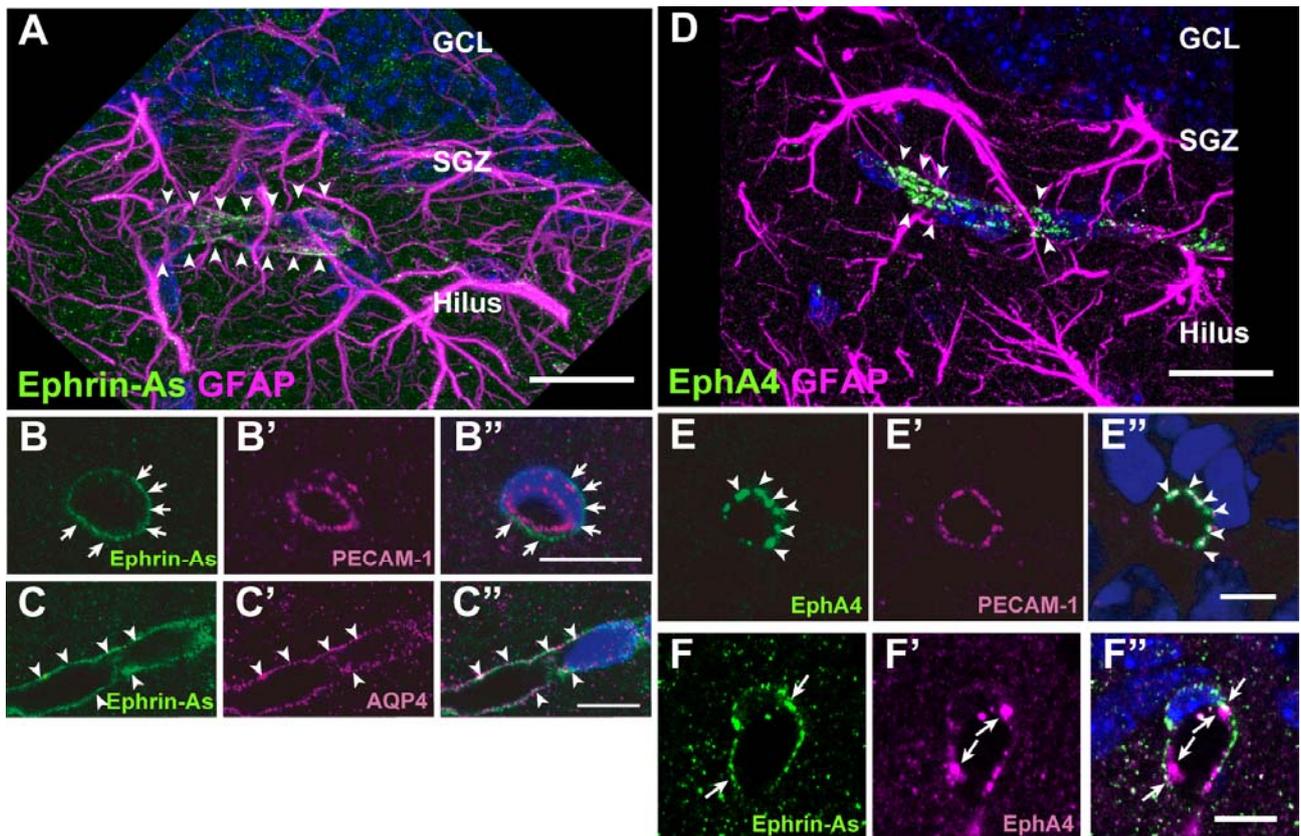


図2 海馬歯状回における Ephrin-As および EphA4 の局在。

A) 歯状回における Ephrin-As の局在 (緑、矢尻)。Ephrin-As はアストロサイト、および神経幹細胞のマーカーである GFAP (紫) と近接している。B-B'') Ephrin-As のシグナル (緑) は血管内皮細胞のマーカーである PECAM (紫) とは、共局在しない (B'' : 矢印)。C) 一方、アストロサイトが血管と接触する部位に局在するアクアポリン4 (AQP4 : 紫) とは共局在する (C'' : 矢尻)。D) Ephrin-As の受容体の一つである EphA4 の局

在 (緑)。Ephrin-As と同様に GFAP (紫) と近接する (矢尻)。E-E”) EphA4 は PECAM とは共局在する (E” : 矢尻)。F-F”) Ephrin-As と EphA4 は血管の周囲で相補的に局在する (矢印)。
 GCL : 顆粒細胞層、SGZ : 顆粒細胞下帯、Hilus : 歯状回門

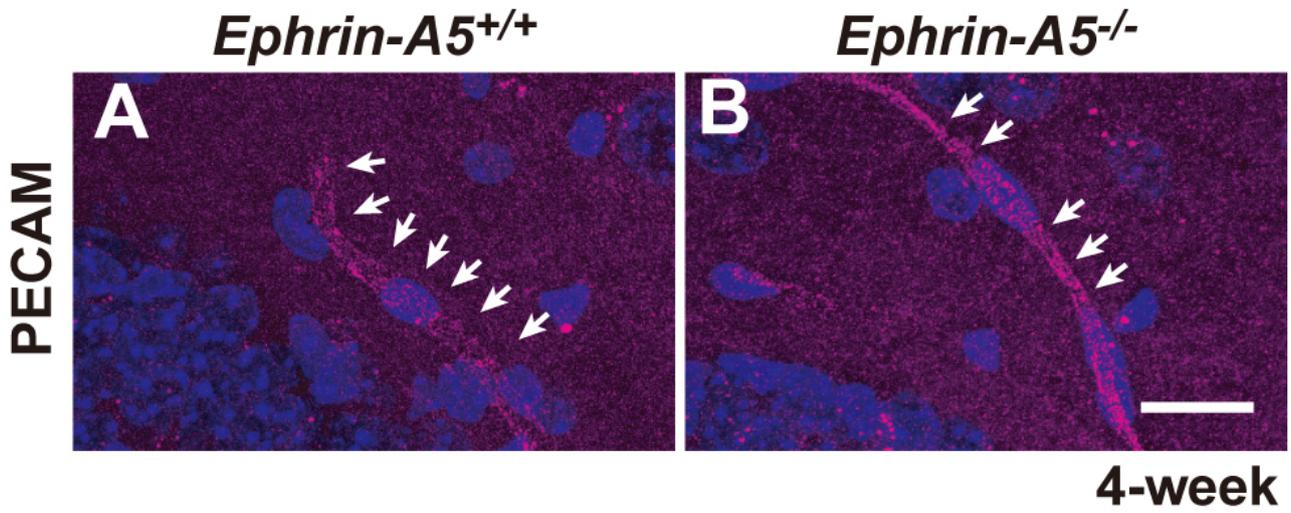


図3 野生型 (A) および *Ephrin-A5^{-/-}* マウス (B) における海馬歯状回顆粒細胞下帯付近における毛細血管の形態。*Ephrin-A5^{-/-}* マウスでは図に見られるような細い血管 (B : 矢印) が増加していた。

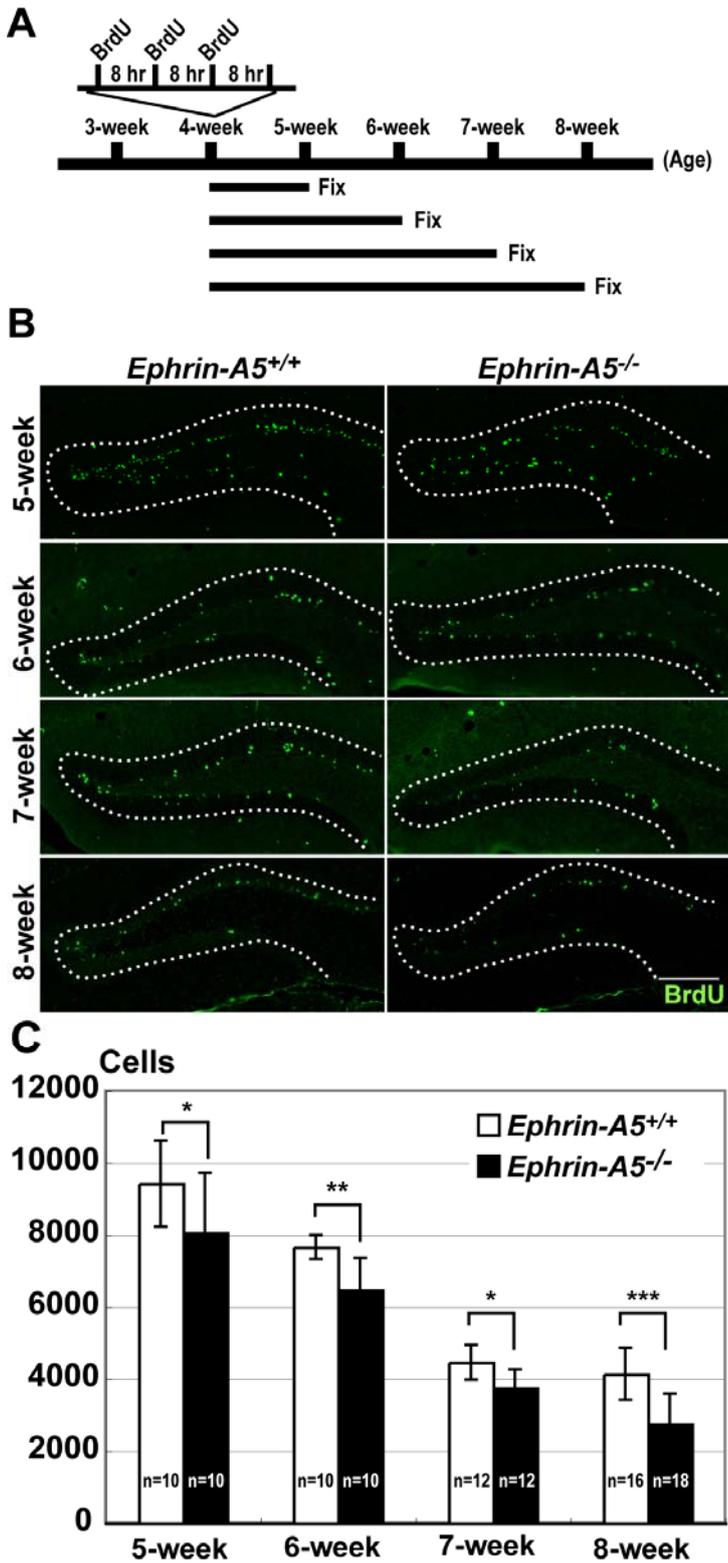


図4 *Ephrin-A5*^{-/-} マウスでは、新生ニューロンの維持に障害が起こる。A) 新生ニューロンの維持における *Ephrin-A5* の機能を調べるため、4 週齢 (4-week) の野生型及び *Ephrin-A5*^{-/-} マウスに BrdU を投与し、5 (5-week)、6 (6-week)、7 (7-week)、8 週齢 (8-week) でサンプリングを行い、BrdU 陽性細胞の数を調べた。B, C) 野生型及び *Ephrin-A5*^{-/-} マウスの両方で、BrdU 陽性細胞 (緑) は週ごとに減少したが、*Ephrin-A5*^{-/-} マウスでは3週以降にも著しい減少が見られた。点線：顆粒細胞層の外周。

【用語説明】

- * 1 **Ephrin-A5** : 細胞外膜分子の一つ。胎生期では軸索の伸長などに関わる。
- * 2 **星状膠細胞 (アストロサイト)** : 神経細胞の一つ。脳では最も多く存在する細胞と考えられている。その機能は多岐にわたり、ニューロンの支持や脳血液関門の構築、脳血管径の制御などを行っていると考えられている。
- * 3 ***in situ* hybridization** : タンパク質の鋳型となるメッセンジャーRNA (mRNA) の発現している細胞、組織を調べる方法。
- * 4 **免疫組織化学** : あるタンパク質を特異的に認識する抗体を用いて、タンパク質の細胞内、組織内局在を調べる方法。
- * 5 **EphA4** : 細胞膜分子の一つである A 型 Eph 受容体の一つ。A 型 Ephrin と結合する事により、細胞内へシグナルを伝える。
- * 6 **BrdU (5-ブロモ-2-デオキシウリジン)** : DNA を合成するチミジンの類似体。細胞が分裂する際に染色体に取り込まれるため、増殖した細胞を標識できる。現在では広く細胞増殖のマーカとして用いられている。

【論文題目】

Impaired Hippocampal Neurogenesis and Vascular Formation in Ephrin-A5-Deficient Mice

(翻訳 : Ephrin-A5 欠損マウスでは海馬でのニューロン新生と血管形成が阻害される)

(お問い合わせ先)

東北大学大学院医学系研究科
教授 大隅 典子 (おおすみ のりこ)
電話番号 : 022-717-8201
Eメール : osumi@mail.tains.tohoku.ac.jp

(報道担当)

東北大学脳科学グローバルCOE
広報・コミュニケーション担当
長神 風二 (ながみ ふうじ)
電話番号 : 022-717-7908
ファックス : 022-717-7923
Eメール : f-nagami@mail.tains.tohoku.ac.jp