第87回関西実験動物研究会

個体レベルの遺伝子操作による中枢神経系の発生と機能の解析

1. 哺乳動物の neuronal identity 決定の分子機構

斎藤哲一郎 (千葉大学大学院医学研究院 発生生物学領域)

哺乳動物には極めて多種多様な神経細胞が存在し、個々の神経細胞は各々に特徴的な性質 (neuronal identity) を有し、高次神経機能を担っている。そのため、neuronal identity がいかに決定されるのかは、神経科学の根本的な課題である。また、再生医学の1つとして神経疾患を細胞で治療することを目指す上でも極めて重要である。私は neuronal identity 決定の機構をマウス個体のレベルで解析するため、種々の実験系を開発しながら研究を進め、交連神経細胞の分化機構の全容を解明しつつある。

Mbh1 は differential PCR 法でクローニングされたホメオボックス遺伝子で、発生過程の神経系で特異的に発現する。*Mbh1* を発現する細胞は胎生 10.5 日のマウス脊髄の蓋板近傍で生じた後、発生が進むとともに脊髄の中間 (翼板の最下部) へ移動する。*Mbh1* 遺伝子の発現制御を明らかにするため、*Mbh1* のゲノム DNA 断片をレポーター遺伝子の *lacZ* と繋いだコンストラクトを種々作製し、トランスジェニックマウスで解析を行った。その結果、*Mbh1* を発現した細胞は交連神経細胞に分化し、*Mbh1* の発現にはゲノムの 3' 側に存在する E ボックスが必須であることが明らかとなった。この E ボックスにはプロニューラル因子の *Math1* が *in vivo* で結合し、*Mbh1* の発現を活性化させていた。

一方、*Mbh1* の機能を調べるため、*in vivo* electroporation 法を用いマウス胎仔の脊髄へ高効率で遺伝子導入する実験系を開発した。この系で *Mbh1* 遺伝子を異所的に発現させると、脊髄背側の神経になるべき細胞が交連神経細胞へ運命転換し、Tag-1 やネトリンレセプターの *Dcc* を発現するようになった。つまり、*Mbh1* は交連神経の neuronal identity 決定因子であることが明らかとなった。さらに、*Mbh1* のキメラタンパク質を利用することにより、*Mbh1* は転写抑制因子として機能し交連神経細胞の分化に必須であることも示された。以上の結果、交連神経細胞の分化では、まず *Math1* が *Mbh1* の発現を直接的に制御し、*Mbh1* は何らかの転写抑制因子の発現を抑えることで、交連神経細胞の運命を決定することが明らかとなった。