

感覚情報処理部門に来て

野 田 昌 晴

私が感覚情報処理部門の2代目教授として来所したのが、平成3年9月であるから、早いもので丸5年を経過したことになる。この間、体重と血中コレステロール値、加えて頭の白髪は着実に増加したが、研究成果はどうであろうか。当初は広い所へ一人でラボ中静まり返り、屋上のクーリングタワーの音まで聞きとれたのが今では嘘のようである(図1)。

京都大学の10年余り、神経や筋肉細胞における活動電位の発生に中心的役割を担うイオンチャネルの構造と機能を明らかにする研究を行ってきたが、基生研に来てからはこの分野の研究は一切やめることにした。1つには、リガンド依存性イオンチャネルの代表であるニコチン性アセチルコリン受容体、並びに電位依存性イオンチャネルの典型である Na^+ チャネルについて、その構造と機能部位の解明が一段落した段階に達していたこともあるが、任地が基礎生物学研究所であったことも無関係ではない。

新しいラボの立ち上げに当たり、神経発生生物学の領域で特に2つのプロジェクトに重点を置くことにした。1つは、神経細胞同士がどのようなメカニズムでその結合すべき相手の細胞を見つけるかという、この領域の不変的(?)テーマであり、もう1つは、中枢神経系の細胞外基質として大量に存在するプロテオグリカンの脳形成における役割である。後者は、脳に特異的に発現するプロテオグリカン分子が10数種類存在することが推定されていたにもかかわらず、その重要性についてはそれ程注目されていない状況があったからである。

1. 中枢神経系における特異的神経結合形成の分子・細胞機構

神経系では、その発生過程において、ある領域の神経細胞から伸長した神経軸索が別の領域の特定の神経細胞に正確に対応して結合する投射地図が、様々な領域で形成される。ニワトリの網膜視蓋投射の系では、網膜の鼻側(前側)の領域あるいは耳側(後側)の領域から発した視神経は、視中枢(視蓋)のそれぞれ、後側、前側の領域に選択的に神経結合を形成する。我々は、網膜の鼻側あるいは耳側半分の領域に特異的に発現する遺伝子を探すことから始めることによって、この系における領域特異的神経回路網形成の分子機構の解明を目指してきた。

これまでに、網膜において領域特異的発現を示すいくつかの新規分子を同定するとともに、winged-helix型の転写調節因子であるCBF-1とCBF-2が、網膜のそれぞれ鼻側、耳側の領域特異性、すなわち、視蓋における投射領域を決定するマスター遺伝子であることを明らかにした(図2)。今後、両遺伝子の下流に位置する遺伝子群とその機能を明らかにしていこうと考えている。

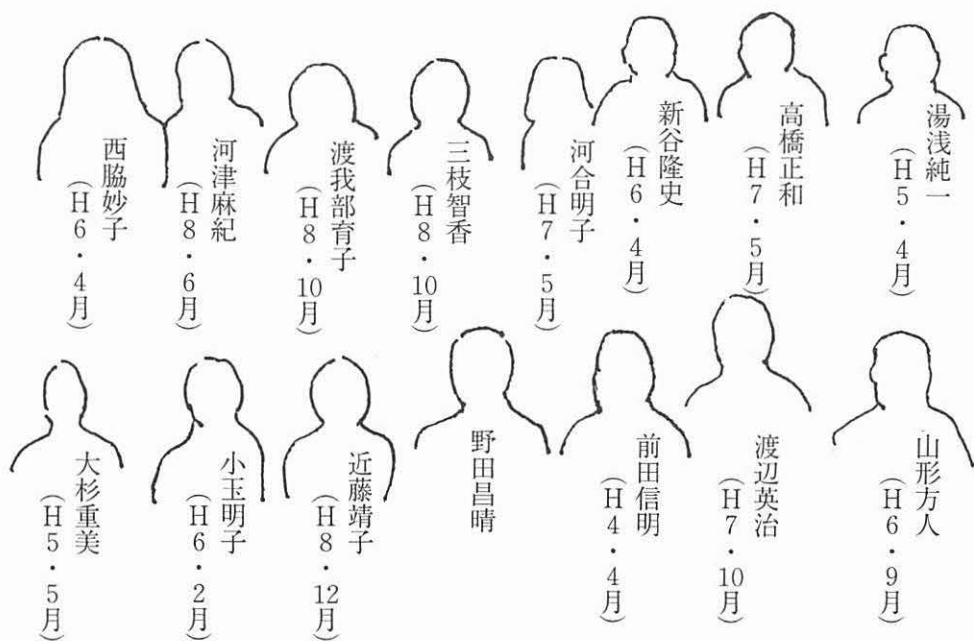


図1. 平成9年1月13日現在の感覚情報処理部門構成員
年月は部門に参入した時期を示す。

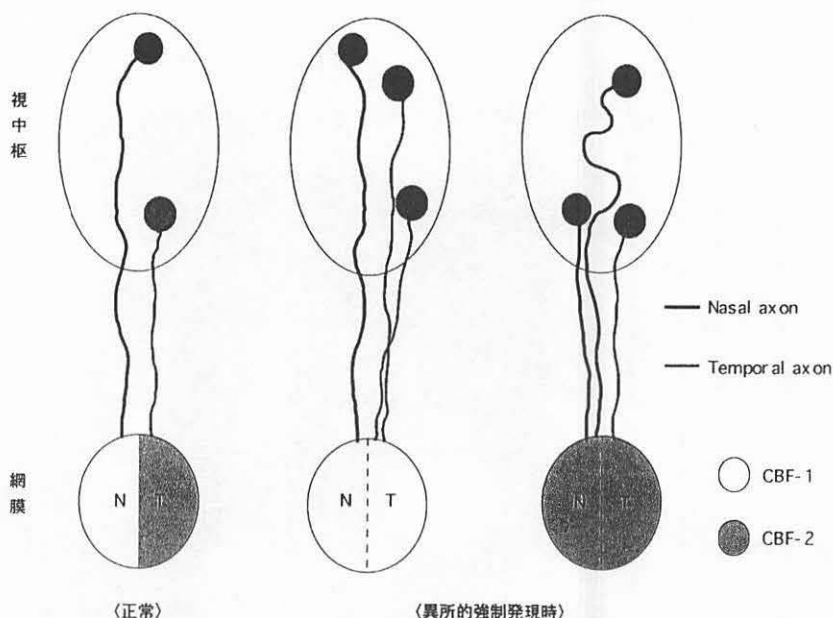


図2. CBF-1, CBF-2の異所的発現による視神経投射の変化

CBF-1, CBF-2は網膜においてそれぞれ鼻側あるいは耳側の領域に選択的に発現している。CBF-1を発現した Temporal axon は視蓋（視中樞）の後側領域に投射するようになる。また CBF-2を発現した Nasal axon は視蓋の前側領域に投射するようになる。Nasal axon, 網膜の鼻側領域から伸びた視神経軸索； Temporal axon, 網膜の耳側領域から、伸びた視神経軸索。

一方、視中樞では何種類もの神経細胞が層状に配列した皮質構造を形成している。網膜からの神経軸索は、これらの層の中で特定の場所、すなわち特定の種類の細胞のしかも限定された細胞表面にシナプス結合を形成する。この層特異的結合の形成には、網膜神経節細胞のサブクラスが存在が関与していると推定される。視中樞を形成する細胞のサブクラス及び層特異的細胞構造に対応する分子マーカーの探索を通じて、細胞レベルでの特異的シナプス結合形成に関与する分子・細胞機構を追及したいと考えている。

2. プロテインチロシンホスファターゼ ζ 及び η の脳形成における役割

中枢神経系における主要な細胞外基質分子はプロテオグリカン (PG) であり、いくつかの分化(栄養)因子は、プロテオグリカンのグリコサミノグリカン鎖に結合することによって初めて機能的なリガンドとなる。我々はラット脳を用いて、脳中に複数のプロテオグリカン型タンパク質チロシンホスファターゼが存在すること、その内の1つがPTP ζ であることを明らかにした。PTP ζ 遺伝子からは3つの splicing variant が生じ、その内の1つは細胞外へ分泌されて、脳の細胞外マトリックスの主要成分である 6B4 PG となる (図3)。我々は、これまで受容体が不明であったプレイオトロフィン (PTN) 受容体がこの PTP ζ であることを見出した。PTNの培養大脳皮質ニューロンに対する神経突起伸張作用は抗 6B4 PG によって中和される。PTNはヘパリン結合性増殖因子 (HB-GAM)、ヘパリ

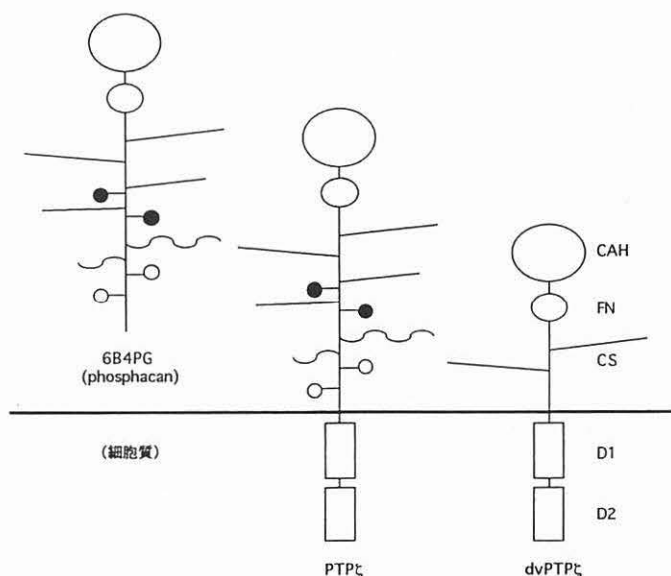


図 3. プロテインチロシンホスファターゼと 6B4 プロテオグリカン

図のように 1 つの遺伝子から RNA スプライシングの違いによって、3 つの分子が生成する。6B4 プロテオグリカンは PTP ζ の細胞外領域に相当し、dvPTP ζ は細胞外領域の一部を欠失している。これら 3 分子共にコンドロイチン硫酸プロテオグリカンである。

CAH, carbonic anhydrase like domain; FN, fibronectin type [I] domain; D1, D2, tyrosine phosphatase domain; CS, chondroitin sulfate chain.

ン結合性神経突起伸展因子 (HBNF) と呼ばれ、ミッドカイン (MK) と共に新規のヘパリン結合因子ファミリーを形成している。両者共にレチノイン酸によって誘導されることが知られている。また、PTP ζ にも PTP γ というよく似た分子が存在し、1 つのファミリーを形成している。両者共に脳で発現が認められるが、PTP γ は PTP ζ とは異なり、プロテオグリカンではない。最近我々は PTP γ にも数種の splicing variant が存在することを明らかにした。PTP ζ L1, NCAM, Tenascin 等の細胞接着分子、細胞外基質分子とも相互作用することが判っている。今後、PTP ζ, PTP γ の細胞内基質分子を同定するとともに、両者の脳形成における役割の違いを明らかにしたい。両分子は特定の細胞内タンパクのチロシンリン酸化レベルの調節を通して、神経細胞の分化、移動、神経回路網形成に関与していることが推定され、その全体像の解明を目指す。

3. 遺伝子変換マウスの作成

中枢神経系形成の分子機構を明らかにしていく上で、研究対象である特定の遺伝子の機能を明らかにする手段を持つことは必須である。理想的には、個体発生において、得られた遺伝子の発現を時間的、空間的、量的に意のままにコントロールできる手法を持つことである。最近の遺伝子ターゲティング法の進歩は、これを近い将来可能にするところまで来ている。当研究室においてもこのような観

点から、上記の PTP と及びグリア型電位依存性ナトリウムチャンネル遺伝子について、研究手法の導入と同時に、これらの遺伝子の個体発生における発現様式、生理機能等を明らかにすることを目的に、遺伝子ノックアウトマウスの作成を始めたところである。将来は上記のプロジェクトで同定されてくるであろう新規遺伝子群がその対象となる。

以上、代表的研究に焦点を絞って過去 5 年間の要点を述べたが、これらの成果の多くはこの 2～3 年の間に成就したものである。研究室の立ち上げには、全ての人にとって新天地であるがゆえの大いなる希望とある種のストレスがある。振り返るとスタッフ、学生、共同研究者、多くの支援者に恵まれて順調に進み始めたように思う。これから先も岡崎に初めて降り立った時の初心を忘れずに責任を果たしていきたいと思う。

劫初よりつくりいとなむ殿堂にわれも黄金の釘一つ打つ ——与謝野晶子

文献

1. Noda, M. (1993) Structure and function of sodium channels. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 707, 20-37.
2. Maeda, N., Hamanaka, H., Shintani, T., Nishiwaki, T. and Noda, M. (1994) Multiple receptor-like protein tyrosine phosphatases in the form of chondroitin sulfate proteoglycan. *FEBS Lett.* 354, 67-70.
3. Maeda, N., Hamanaka, H., Oohira, A. and Noda, M. (1995) Purification, characterization and developmental expression of a brain-specific chondroitin sulfate proteoglycan, 6B4 proteoglycan/phosphacan. *Neuroscience.* 67, 23-35.
4. Drescher, U., Kremoser, C., Handwerker, C., Lochinger, J., Noda, M. and Bonhoeffer, F. (1995) *In vitro* guidance of retinal ganglion cell axons by RAGS, a 25 kDa tectal protein related to ligands for Eph receptor tyrosine kinases. *Cell* 82, 359-370.
5. Watanabe, E., Maeda, N., Matsui, F., Kushima, Y., Noda, M. and Oohira, A. (1995) Neuroglycan C, a novel membrane-spanning chondroitin sulfate proteoglycan that is restricted to the brain. *J. Biol. Chem.* 270, 26876-26882.
6. Maeda, N. and Noda, M. (1996) 6B4 proteoglycan/phosphacan is a repulsive substratum but promotes morphological differentiation of cortical neurons. *Development* 122, 647-658.
7. Watanabe, E., Matsui, F., Keino, H., Ono, K., Kushima, Y., Noda, M. and Oohira, A. (1996) A membrane-bound heparan sulfate proteoglycan that is transiently expressed on growing axons in the rat brain. *J. Neurosci. Res.* 44, 84-96.
8. Nishizuka, M., Ikeda, S., Arai, Y., Maeda, N. and Noda, M. (1996) Cell surface-associated extracellular distribution of a neural proteoglycan, 6B4 proteoglycan/phosphacan, in the olfactory epithelium, olfactory nerve, and cells migrating along the olfactory nerve in chick embryos. *Neurosci. Res.* 24, 345-355.
9. Maeda, N., Nishiwaki, T., Shintani, T., Hamanaka, H. and Noda, M. (1996) 6B4 proteoglycan/phos-

- phacan, an extracellular variant of receptor-like protein tyrosine phosphatase ζ /RPTP β , binds pleiotrophin/HB-GAM. J. Biol. Chem. 271, 21446-21452.
10. Yuasa, J., Hirano, S., Yamagata, M. and Noda, M. (1996) Visual projecton map specified by expression of transcription factors in the retina. Nature 382, 632-635.
 11. Shintani, T., Maeda, N., Nishiwaki, T. and Noda, M. (1997) Characterization of rat receptor like protein tyrosine phosphatase γ isoforms. Biochem. Biophys. Res. Comm., in press.