

統合神経生物学研究部門 (1997-2006)

野 田 昌 晴

手元に「基礎生物学研究所 11 ～ 20 年の歩み」がある。感覚情報処理研究部門のところを見ると、着任後 5 年間の歩みが未だ新任としての新鮮な昂揚感を感じさせる文章で記してある。感覚情報処理研究部門は、平成 16 年 (2004 年) の法人化を期して、統合神経生物学研究部門と改称した。その心は、脳神経系というものを、個別の感覚系等を超越して、発生の時間軸も考慮に入れながら、システムとして統合的に理解をすることを目指すということである。今回の 30 周年記念誌は、着任後 5 年～ 15 年に亘る 10 年間の歩みということになる。この間に、当時のスタッフである前田信明、山形方人、渡辺英治の各氏は全て転出し、新谷隆史、作田拓、檜山武史の各氏に代わったが、一貫して 3 つのテーマを追求してきた。異なる研究に共通したポリシーを感得していただけるでしょうか。

I 網膜視蓋投射の分子機構

1. 網膜における領域特異化の分子機構

神経系では様々な領域で、ある領域の神経細胞から発した神経軸索が別の特定の領域の神経細胞に対して、互いの二次元的相対位置関係を保持した様式で正確に対応した結合を形成する、いわゆるトポグラフィック投射路が見られる。その代表である網膜視蓋投射系では、網膜の鼻側 (前側) あるいは耳側 (後側) の領域から発した視神経は、視蓋 (哺乳類では上丘) 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。同様に、背側からは腹側、腹側からは背側の領域に投射が起こる。この視神経のトポグラフィックな投射は、網膜の発生過程における領域特異化がその基盤となっている。

我々は、RLCS 法等を使って、まず発生期のニワトリ網膜において A-P (前後)、D-V (背腹) 軸方向に領域特異的に (勾配をなして) 発現する分子を網羅的に同定することを試みた。その結果、53 の領域特異的発現を示す分子の同定に成功した。それらはレチノイン酸合成酵素 (RALDH-1, -3)、CBF1, 2 等の転写調節因子、Ventroptin (VOPT) 等の分泌分子、Eph 受容体、ephrin、受容体型 PTP、IgSF 分子等の膜分子、細胞骨格関連分子、等、新規分子を含む多様な分子群であった。我々は、網膜の領域特異化が起こる E2-E6 において領域特異的発現をする分子群について、その詳細な発現解析と相互関係を明らかにする研究を展開した。その結果、網膜の前後軸、背腹軸方向の領域特異化のための遺伝子カスケードが概ね明らかとなった。前後軸方向には Fgf8 → CBF1/CBF2 → SOH1, GH6 → ephrin-A5/EphA3 というカスケードが存在し、背腹軸方向には BMP4/VOPT → BMP2/VOPT → Tbx2,3,5/cVax → ephrin-B1, B2/EphB2, B3; ephrin-A2 というカスケードが存在する (図 1 参照)。その中での特筆すべき発見は、①背腹軸は、実際に視神経が投射を始める E6 から後方に傾斜し、前後軸に対して

垂直ではないこと、②この傾斜には、BMP4 から BMP2 への遺伝子発現の交替と CBF-1 による BMP シグナルの抑制という、当初予想しなかったメカニズムが関与していること、③背腹軸方向の領域特異化は BMP シグナルが決定しており、これまで前後軸方向のトポグラフィック分子とされていた ephrin-A2 が、BMP の支配下にある、E6 から傾斜する DV 軸方向の勾配分子であること、の 3 つが挙げられる。

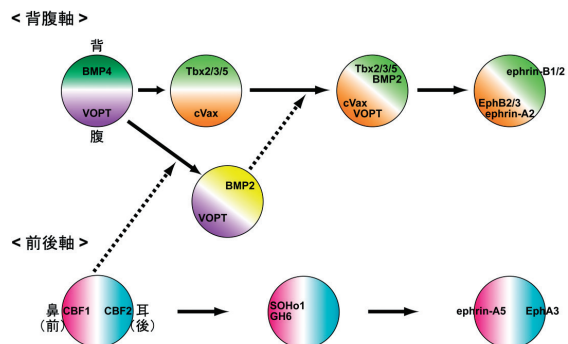


図 1. 網膜における軸形成およびパターン形成の遺伝子カスケード

2. 領域特異的神経結合形成の分子機構

視神経の成長円錐に分布する Eph A/B 両受容体が標的領域に分布するそのリガンドである ephrin A/B によって活性化されることが、網膜視蓋投射における領域識別の基盤である。我々は、受容体型 PTP の 1 つ、Ptpro が Eph A/B を基質としており、ephrin-A/B による Eph A/B の活性化を抑制する働きをしていることを見出した。更に、Ptpro の活性を制御することによって、視神経の投射部位を *in vivo* において人為的に変えうることを示した。この研究によって、受容体型 PTP(RPTP) が受容体型プロテインチロシンキナーゼ (RPTK) を直接の基質とすることが初めて明らかになった。

Eph A/B-ephrin-A/B による視蓋上の最初の領域認識は、ピンポイントで領域特異的とは言えない。この意味で正しい神経結合の形成には、軸索の分枝形成、シナプス形成、及び不適切な軸索や分枝の刈り込み (refinement: 選択的除去) が重要な step であるにもかかわらず、その研究は軸索誘導の研究に比較して遅れている。我々は、軸索の伸長・分枝に関与すると言われている CRMP ファミリー (CRMP1-4) に、新規のアイソフォーム CRMP1-4A が存在することを見出した。A アイソフォームは antagonistic に働いて、軸索の伸長・分枝を制御していると思われる。他にも、新規免疫グロブリンスーパーファミリー分子、leucine-rich repeat を有する新規分子等が、網膜における発現を人為的に変化させると、Eph-ephrin 系を変化させた時以上の影響を与えることを見出している。また、EphB と ephrin-B は、軸索伸長制御だけでなく、軸索の分枝形成、更にシナプス可塑性を調節しているという知見が集積しつつある。両ステップにおける Ptpro の役割が注目される。

II 受容体型プロテインチロシンホスファターゼζ (RPTPζ/Ptprz) の機能

Ptprz は主に中枢神経系に発現する、プロテオグリカンに属する RPTP 分子である。RPTP の研究は、RPTK の研究に比較して著しく遅れている。その理由は、リガンド分子の探索および基質分子の探索において、決定的と言える手法がないことにある。我々は、Ptprz をモデルとして、PTP の基質分子同定法の開発に着手し、Yeast substrate-trapping system の開発を行なった。この方法を用いて、Ptprz の基質分子と数多くの相互作用分子の同定に成功した。Ptprz は、Git1 (Arf-GAP) や p190 RhoGAP を基質とし、PSD-95 や MAGI-3 等の PDZ ドメインをもつ分子群と C 末で相互作用している

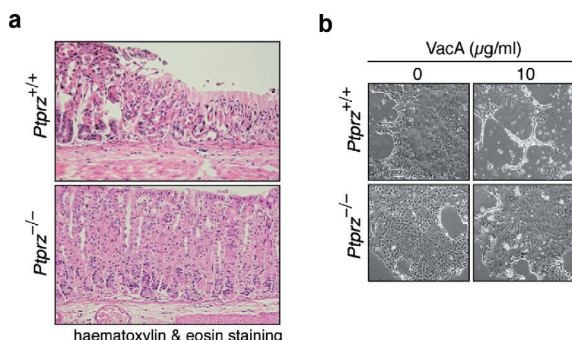


図 2. Ptpz シグナル異常と胃潰瘍

(a) VacA (500 μ g/kg) 経口投与 48 時間後の胃粘膜組織像。野生型マウスの胃粘膜は著しく損傷しているが、*Ptpz* 欠損マウスでは全く損傷が認められない。

(b) 胃上皮初代培養細胞に対する VacA の作用。野生型細胞は、VacA 刺激の 24 時間後から細胞剥離が始まり、48 時間後にはほとんど基質に接着していない。

ス可塑性における *Ptpz* の役割が実証された。更に *Ptpz* の別の役割として、これが神経系以外にも消化管の粘膜上皮細胞に発現しており、胃潰瘍の原因菌である *H. pylori* の分泌する VacA 毒素の受容体として機能していることを発見した (図 2)。この研究は、胃潰瘍の発生機序として、VacA がその細胞空胞化活性によって細胞毒性を発揮するというそれまでの説を覆し、VacA が *Ptpz* の偽リガン分子として誤ったチロシンリン酸化シグナルを発生し、細胞—基質間接着の弱体化を引き起こすことによるという新しい説を提出した。

Ⅲ 体液恒常性制御の脳内機構

Na イオンは生体の浸透圧活性の 90% 以上を担っており、体液中の Na レベルは生理的ナトリウム濃度として厳密に保たれている。生命活動に必須である Na 恒常性を保つために、生体は、塩分の経口摂取と腎臓における排泄・再吸収の制御を統合的に行なっている。我々は *Nax* 遺伝子ノックアウトマウスの作製と解析を通して、*Nax* が脳内 Na レベルセンサーであることを明らかにし、Na レベルセンシングの脳内機構に関する研究領域を切り開いてきた。重要な進展として、① *Nax* (Nav2/NaG) チャンネルの発現部位の同定と塩分摂取行動異常の発見、② *Nax* が Na⁺ 濃度感受性 Na チャンネルであることの証明、③ 脳弓下器官が塩分摂取行動制御の中枢であることの証明、④ *Nax* が脳室周囲器官の上皮細胞を含むグリア細胞に発現していることの発見がある。我々は今後とも、「体液恒常性制御の脳内機構」の解明に向けて、分子・細胞レベルから神経回路、更には個体レベルの行動制御に関する研究を包括的に進めて行くつもりである。

参考文献

1. Sakuta, H., Takahashi, H., Shintani, T., Etani, K., Aoshima, A. & Noda, M. (2006) Role of BMP2 in retinal patterning and retinotectal projection. *J. Neurosci.* 26, 10868-10878.
2. Shintani, T., Ihara, M., Sakuta, H., Takahashi, H., Watakabe, I. & Noda, M. (2006) Eph receptors are negatively controlled by protein tyrosine phosphatase receptor type O. *Nature Neurosci.* 9, 761-

769.

3. Niisato, K., Fujikawa, A., Komai, S., Shintani, T., Watanabe, E., Sakaguchi, G., Katsuura, G., Manabe, T. & Noda, M. (2005) Aged-dependent enhancement of hippocampal long-term potentiation and impairment of spatial learning through the Rho-associated kinase pathway in protein tyrosine phosphatase receptor type Z-deficient mice. *J. Neurosci.* 25, 1081-1088.
4. Hiyama, T. Y., Watanabe, E., Okado, H. & Noda, M. (2004) The subfornical organ is the primary locus of sodium-level sensing by Nax sodium channels for the control of salt-intake behavior. *J. Neurosci.* 24, 9276-9281.
5. Shintani, T., Kato, A., Yuasa-Kawada, J., Sakuta, H., Takahashi, M., Suzuki, R., Ohkawara, T., Takahashi, H. & Noda, M. (2004) Large-scale identification and characterization of genes with asymmetric expression patterns in the developing chick retina. *J. Neurobiol.* 59, 34-47.
6. Takahashi, H., Shintani, T., Sakuta, H. & Noda, M. (2003) CBF1 controls the retinotectal topographical map along the anteroposterior axis through multiple mechanisms. *Development* 130, 5203-5215.
7. Fujikawa, A., Shirasaka, D., Yamamoto, S., Ota, H., Yahiro, K., Fukada, M., Shintani, T., Wada, A., Aoyama, N., Hirayama, T., Fukamachi, H. & Noda, M. (2003) Mice deficient in protein tyrosine phosphatase receptor type Z are resistant to gastric ulcer induction by VacA of *Helicobacter pylori*. *Nature Genet.* 33, 375-381.
8. Hiyama, T. Y., Watanabe, E., Ono, K., Inenaga, K., Tamkun, M. M., Yoshida, S. & Noda, M. (2002) Na_x channel involved in CNS sodium-level sensing. *Nature Neurosci.* 5, 511-512.
9. Sakuta, H., Suzuki, R., Takahashi, H., Kato, A., Shintani, T., Iemura, S., Yamamoto, T.S., Ueno, N. & Noda, M. (2001) Ventroptin: A novel BMP-4 antagonist expressed in a double-gradient pattern in the retina. *Science* 293, 111-115.
10. Kawachi, H., Fujikawa, A., Maeda, N. & Noda, M. (2001) Identification of GIT1/Cat-1 as a substrate molecule of protein tyrosine phosphatase ζ/β by the yeast substrate-trapping system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98, 6593-6598.
11. Watanabe, E., Fujikawa, A., Matsunaga, H., Yasoshima, Y., Sako, N., Yamamoto, T., Saegusa, C. & Noda, M. (2000) Na_v2/NaG channel is involved in control of salt intake behavior in the central nervous system. *J. Neurosci.*, 7743-7751.
12. Maeda, N. & Noda, M. (1998) Involvement of recepto20r-like protein tyrosine phosphatase ζ / RPTP β and its ligand pleiotrophin /heparin-binding growth-associated molecule (HB-GAM) in neuronal migration. *J. Cell Biol.* 142, 203-216.

