

S2-02

哺乳類中枢神経発生過程に機能する新規遺伝子群の同定

榊原 伸一

早稲田大学人間科学学術院

シンポジウム

神経幹細胞を含む神経系前駆細胞 (NSPC) は胎生期の中枢神経系形成に重要であるだけでなく、成体脳でのニューロン産生能など興味深い特性を持つ。NSPC を維持するための遺伝子発現の制御機構には依然不明な点も多い。我々はマウス胎児および成体脳の SVZ を用いた suppression PCR-subtraction により NSPC に強く発現する遺伝子群のカタログを作成した。その中から今回同定された 2 つの新規遺伝子 radmis と MG46 に着目しさらに詳細に解析を行った。radmis (radial fiber associated mitotic spindle protein) は胎児期の脳室周囲 VZ や成体脳の側脳室周囲 SVZ の NSPC の放射状突起と分裂時の分裂紡錘体微小管 (mitotic spindle) に局在する新規微小管関連タンパク質である。Radm1 は分裂後速やかに後期促進複合体 APC/Cdh1 によるユビキチン化を受け NSPC 内から除去される可能性が示された。ユビキチン化を受けないよう改変した変異型 radmis 遺伝子を子宮内電気穿孔法によりマウス胎仔脳に導入すると、脳室周囲で NSPC の分裂亢進が起きた。さらに shRNA による機能抑制実験の結果から、radmis は NSPC の正常な分裂と染色体分配に必須の機能を持つことが示唆された。一方 MG46 遺伝子は神経堤細胞の移動などに機能する Inca (Induced in Neural Crest by AP2) タンパク質に低いホモロジーを示す。MG46 遺伝子産物は細胞膜直下付近、特に糸状突起や葉状突起に強く局在し、培養細胞や胎仔脳で MG46 を強制発現すると NSPC の形態が球状に変化し、アクチン骨格系の再編成が異常になることが示された。In situ hybridization の結果から MG46 mRNA は胎仔期の延髄や脊髄腹側の VZ などオリゴデンドロサイト前駆細胞の系譜に発現することが示唆された。以上より我々は、MG46 遺伝子は細胞骨格系や細胞接着の制御を通して中枢神経系内での前駆細胞の形態変化や移動を制御する新たな分子であると推定している。

S2-03

マウス長鎖 cDNA に着目した新規神経軸索ガイド因子の探索

増田 知之¹, 八木沼洋行², 上田 秀一¹¹獨協医科大学医学部解剖学(組織)講座, ²福島県立医科大学医学部神経解剖・発生学講座

発生初期、脊髄神経節細胞 (DRG) は中枢と末梢に向けて中枢枝と末梢枝を伸ばす。私たちは脊索等の非標的組織が出す軸索反発因子がこのガイダンスに重要な役割を果たすこと、およびその分子メカニズムを明らかにしてきた。さらに私たちは、DRG の中枢枝が脊髄背側に向かう現象に軸索誘引因子が関与することも明らかにしたが、その分子実体は未だ不明である。

そこで私たちは、脊髄背側からの軸索誘引作用の実体解明を目指し、レーザーマイクロディセクション法によって脊髄背側片を切り出し、その cDNA による候補遺伝子のスクリーニングを行った。スクリーニングには、かずさ DNA 研究所の開発したマウス長鎖遺伝子を集めたマイクロアレイを用いた。その結果、興味深い発現を有する新規遺伝子約 20 個を同定することができた。

これらの遺伝子の遺伝子産物について、組織培養法とエレクトロポレーション法による機能解析を進めた結果、DRG 軸索を誘引・反発する分子が数個見つかり、現在これらの分子のさらなる解析を進めている。本シンポジウムでは、レーザーマイクロディセクション法、遺伝子増幅法、*in situ* hybridization 法、そしてエレクトロポレーション法における私たち独自の創意・工夫点を中心に、これまでの研究成果を概説したい。