

2021年7月20日

報道関係者各位

甲南大学

受精卵から脳のドーパミン神経が作られる全過程を解明

研究成果のポイント

- ヒトに最も近い無脊椎動物であるホヤにおいて、受精卵から脳内のドーパミン神経ができるまでの全過程を明らかにしました。
- 遺伝子調節タンパク質 Otx と MAP キナーゼという酵素のはたらきで脳の決まった場所にドーパミン神経ができることを明らかにしました。
- ホヤとヒトは脳の基本的なしくみが共通であり、将来、ドーパミン神経の再生医療への応用が期待されます。

このたび本学理工学部・統合ニューロバイオロジー研究所の大沼耕平研究員（現・北海道大学助教）と日下部岳広教授は、ヒトに最も近縁な無脊椎動物であるホヤの脳のドーパミン神経が作られる全過程を、受精卵から追跡することに成功し、ドーパミン神経が分化するしくみを明らかにしました。

ドーパミン神経は、喜びや快楽を介する報酬行動や、恋愛や恐怖、不安といった情動行動のコントロールなど様々な役割をすることが知られており、ヒトの活動にとってきわめて重要な神経の一つです。脊椎動物の脳には複数種類のドーパミン神経が存在しており、中脳、視床下部、嗅球などに分布していることが知られています。しかし、ドーパミン神経が作られるメカニズムには未だ不明な点が多く残されています。日下部教授らは以前の研究で、ホヤのドーパミン神経がヒトの視床下部のドーパミン神経に似ていること、ドーパミン神経の分化には *Fer2* と *Meis* という2つの遺伝子が必須の役割をしていることを明らかにしました。さらに、*Fer2* と *Meis* の遺伝子カクテルの導入により、ホヤの脳にある全ての細胞をドーパミン神経へと変換することに成功しました。しかし、正常な脳のなかで特定の場所に決まった数のドーパミン神経が正確に作られるしくみは不明でした。

大沼研究員と日下部教授は、1個の細胞である受精卵が分裂して、脳の神経ができるまでを一つひとつの細胞レベルで追跡する方法を開発し、ドーパミン神経ができる全過程を解明しました。さらに、Otx と MAP キナーゼという2つのタンパク質がそれぞれ独立に作用することによって *Fer2* 遺伝子のスイッチが入りドーパミン神経が作られることを明らかにしました。体のつくりが単純なホヤは、脳の基本的なしくみがヒトと共通であるため、本研究結果はドーパミン細胞の再生医療などへの貢献が期待されます。なお、本研究結果は、英国の発生生物学専門誌 *Development* に2021年6月14日付で掲載されました。

論文タイトル：The complete cell lineage and MAPK- and Otx-dependent specification of the dopaminergic cells in the *Ciona* brain

著者：Kouhei Oonuma and Takehiro G. Kusakabe

掲載誌：*Development* **148**, dev198754 (2021) doi: 10.1242/dev.198754

1. 背景

ドーパミン神経は、喜びや快楽を介する報酬行動や恐怖や不安、恋愛といった情動行動のコントロール、運動機能の調節など様々な役割をしており、ヒトが生命活動を行う上できわめて重要な神経の一つです。私たちの脳には複数種類のドーパミン神経が存在しており、中脳、視床下部、嗅球など脳内のいくつかの領域に分布していることが知られています。特に中脳の黒質領域に存在するドーパミン神経の数が減少するとパーキンソン病が引き起こされることが知られており、ドーパミン神経は生物学的にも、医学的にも非常に重要な研究対象です。中脳のドーパミン神経の機能やその分化メカニズムに関する研究は、パーキンソン病の治療への応用のために精力的に進められており、実際に iPS 細胞から中脳ドーパミン神経を誘導し、パーキンソン病の治療に応用することが試みられています。その一方で、視床下部など中脳以外の領域にあるドーパミン神経の分化メカニズムなど、この神経細胞が作られる仕組みには未だ不明な点が多く残されています。大沼研究員と日下部教授はヒトに最も近い無脊椎動物であるホヤを用いてこの問題に取り組みました。

海産動物ホヤはヒトと同じ脊索動物というグループに属している動物です。ホヤの幼生はオタマジャクシのような形をし、尾を振って海中を泳ぎ回り、背側に神経管が位置するなど、体の基本設計が私たち脊椎動物と同じです（図1）。人間の脳には1000億個の神経細胞（ニューロン）がありますが、ホヤ幼生の脳・神経系を構成する細胞数は350個程度、神経細胞に限定すれば約200個と非常に少数の細胞から構成されています。このように単純でありながら脊椎動物との共通性を備えているホヤ幼生の脳・神経系は、複雑な脊椎動物の脳の発生を理解するうえで良いモデルとなります。これまで日下部教授の研究グループは、感覚器や脳ではたらく多くの遺伝子やタンパク質がホヤと脊椎動物で共通であること、ホヤの脳・神経系の細胞の種類や性質が脊椎動物の脳とよく似ていることを明らかにしてきました。日下部教授らは以前の研究（2018年に発表）で、ホヤのドーパミン神経がヒトの視床下部のドーパミン神経に似ていること、ドーパミン神経の分化には *Fer2* と *Meis* という2つの遺伝子が必須の役割をしていることを明らかにしました。さらに、*Fer2* と *Meis* の遺伝子カクテルの導入により、ホヤの脳にある全ての細胞をドーパミン神経へと変換することに成功しました。しかし、正常な脳のなかで特定の場所に決まった数のドーパミン神経が正確に作られるしくみは不明でした。

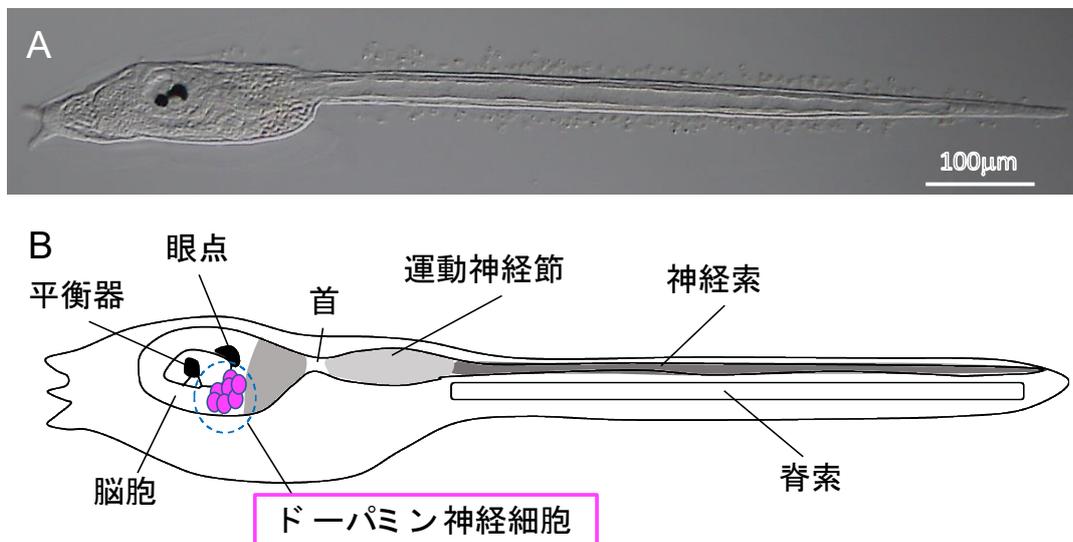


図1. ホヤのオタマジャクシ型幼生 (A. 顕微鏡写真 B. ホヤ幼生の中樞神経系の模式図)
ホヤ幼生の脳のドーパミン神経はヒトの脳の視床下部のドーパミン神経に似ている。

2. 研究成果

今回、大沼研究員と日下部教授が開発した、受精卵が細胞分裂を繰り返して育っていく過程で狙った細胞だけに目印をつける方法を駆使して、ドーパミン神経がどの細胞からできるかを突き止めました（図2）。サンゴの一種で見つかった Kaede という緑色の蛍光タンパク質は紫色光を照射すると赤色に変化する性質があります。この性質を利用して、遺伝子操作技術を用いてホヤの脳の原基（神経板）の細胞核を Kaede で標識して、狙った細胞核だけに紫色光を照射し赤色に変化させて、脳ができるまで追跡しました。その結果、左右対称に1個ずつ存在する a10.73 とよばれる細胞がそれぞれ3回分裂して、16個のドーパミン神経細胞になることが分かりました。

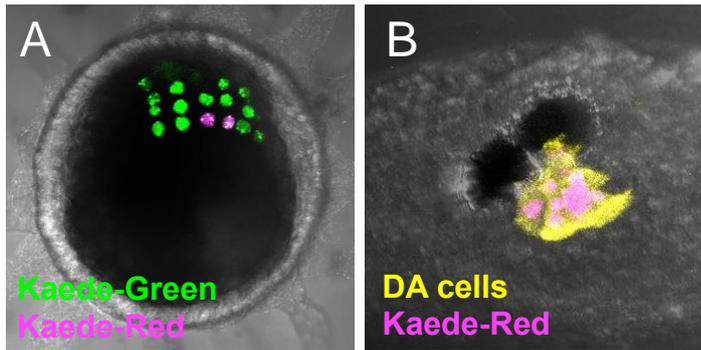


図2. 蛍光タンパク質 Kaede を用いた胚細胞の追跡実験

(A) 脳原基の細胞核を緑色蛍光タンパク質 Kaede で標識し、a9.37 細胞だけに紫色光レーザーを照射し、赤色に変換した。

(B) 脳の蛍光写真。a9.37 細胞の娘細胞の一つ a10.73 細胞がドーパミン神経細胞（DA 細胞）になる。

次に、どのような仕組みで脳の中の a10.73 細胞だけがドーパミン神経になるのかを調べました。ヒトの脳の発生にも重要なはたらきをすることが知られている Otx という転写調節因子（さまざまな遺伝子のスイッチの ON-OFF を調節するタンパク質）に注目し、ホヤの胚で Otx のはたらきを抑える実験（ノックダウン実験）を行いました。その結果、a10.73 細胞からドーパミン神経が作られるためには Otx のはたらきが必須であることが明らかになりました（図3）。

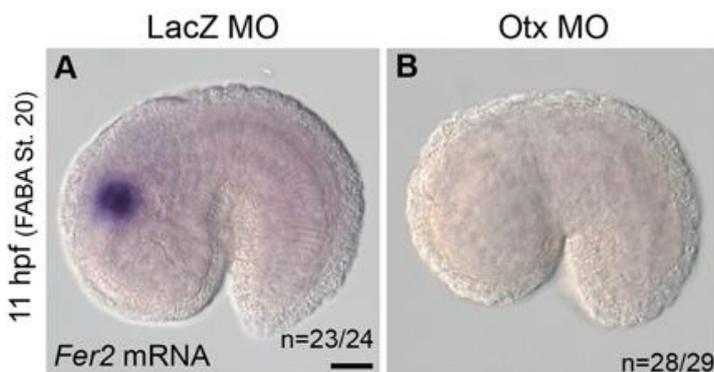


図3. Otx をノックダウンするとドーパミン神経ができなくなる。

(A) Otx が正常にはたらいっている対照胚ではドーパミン神経が分化している（*Fer2* mRNA を発現する）。

(B) Otx ノックダウン胚。 *Fer2* mRNA の発現がみられなくなる。

a9.37 細胞が前後に分裂して a10.73 細胞と a10.74 細胞を生じますが、後ろ側に位置する a10.73 細胞だけがドーパミン神経になります。そこで、隣接する細胞からの信号を細胞内に伝えるときにはたらくタンパク質である MAP キナーゼのはたらきを、薬剤を使って抑えると、a10.73 細胞もドーパミン神経に分化できなくなりました。このことから、a10.73 細胞からドーパミン神経が作られるためには MAP キナーゼのはたらきが必要であることが明らかになりました（図4）。また、Otx と MAP キナーゼがそれぞれ独立に作用することによって *Fer2* 遺伝子のスイッチが入りドーパミン神経が作られることが明らかになりました（図5）。

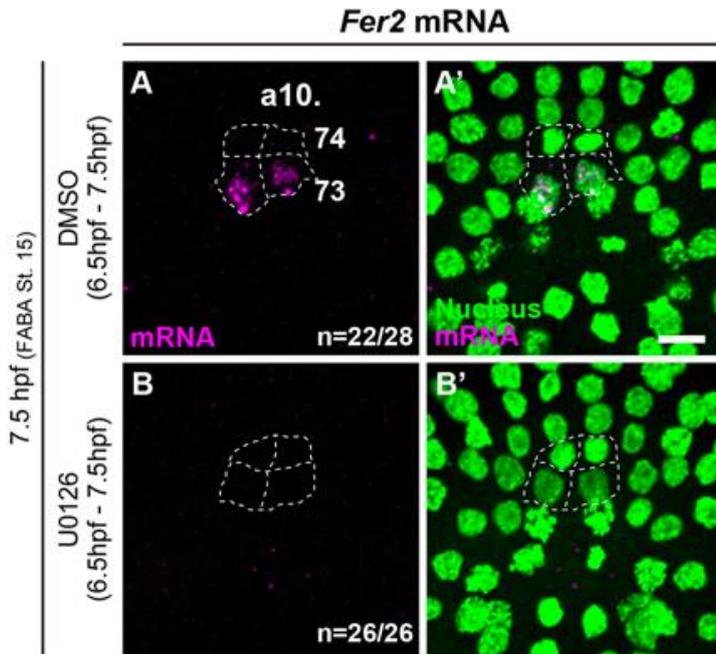


図4. MAP キナーゼのはたらきを阻害するとドーパミン神経ができなくなる。

(A) a10.73 細胞と a10.74 細胞は同じ細胞から生じる姉妹細胞だが、a10.73 細胞だけがドーパミン神経に分化する (*Fer2* mRNA を発現する)。

(B) MAP キナーゼの阻害剤 (U0126) を作用させると a10.73 細胞もドーパミン細胞に分化できなくなる (*Fer2* mRNA の発現がみられない)。

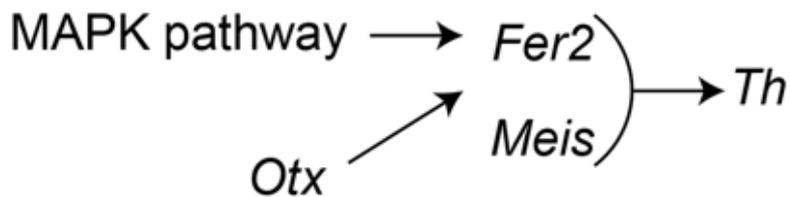


図5. ドーパミン神経が生じるための遺伝子ネットワーク

以前の研究で *Fer2* と *Meis* という2つの遺伝子がともに作用することで、ドーパミン合成酵素の遺伝子 (*Th*) のスイッチがONになることが分かっている。*Meis* はドーパミン神経になる細胞以外でもはたらくのに対し、*Fer2* はドーパミン神経になる細胞だけではたらく。本研究により、Otx と MAP キナーゼがそれぞれ独立に作用して *Fer2* 遺伝子のスイッチがONになり、ドーパミン神経ができることが明らかになった。

3. 今後の期待

ドーパミン神経は、喜びや快楽を介する報酬行動や、恋愛や恐怖、不安といった情動行動のコントロールなど様々な役割をすることが知られており、ヒトの活動にとってきわめて重要な神経の一つです。脊椎動物の脳には複数種類のドーパミン神経が存在しており、中脳、視床下部、嗅球などに分布しています。中脳のドーパミン神経の数が減少するとパーキンソン病が引き起こされることが知られており、ドーパミン神経は医学的にも非常に重要な研究対象です。視床下部など中脳以外の領域にあるドーパミン神経の分化メカニズムなど、この神経細胞が作られる仕組みには未だ不明な点が多く残されています。体のつくりが単純なホヤは、脳の基本的なしくみがヒトと共通であるため、本研究結果はドーパミン神経細胞の再生医療などへの貢献が期待されます。

本研究は日本学術振興会科学研究費補助金、日本科学協会笹川科学研究助成、武田科学振興財団、甲南学園平生太郎基金の支援を受けて行われました。また、本研究で用いたホヤ (カタコウレイボヤ) は、日本医療研究開発機構ナショナルバイオリソースプロジェクト (NBRP) から提供を受けました。

◀本件に関するお問い合わせ先▶

[プレスリリースについて]

甲南学園広報部

兵庫県神戸市東灘区岡本 8-9-1

電話 078-435-2314 (直通) Email: kouhou@adm.konan-u.ac.jp

[研究内容について]

甲南大学理工学部・統合ニューロバイオロジー研究所 日下部岳広 (教授・所長)

TEL: 078-435-2511 (直通) FAX: 078-435-2539 E-mail: tgk@konan-u.ac.jp

本プレスリリース配信先：兵庫県教育委員会記者クラブ、神戸市政記者クラブ、大阪科学・大学記者クラブ