

神経細胞の軸索成長の基本的メカニズム

湯浅（河田）純一

神戸大学大学院医学系研究科 共同研究員

研究のねらい

多様な様式をとりながらも高度に秩序立てられた神経回路網がどのようにして形成されるのか、その基本原理を解明することは神経発生学の主要命題であると思われる。神経回路のおおまかな枠組みを作り上げる過程で重要な役割を果たしているのが軸索先端部の成長円錐であるが、種々の細胞外シグナルに応答しながらその将来の進行方向がどのようにして決定されるのかに関しては、いまだ不明な点が多い。本研究は、semaphorin シグナル伝達分子として同定された細胞内タンパク質 CRMPs (collapsin response mediator proteins) を成長円錐舵取り機構の主要コンポーネントと想定し、その機能解析並びにシグナル伝達系の解明を通して、軸索成長、ひいては神経回路形成の基本原理に迫ることを目標とした。

研究の成果と考察

- 1) 現在知られている5つのメンバーのうち、CRMP1-4について、各々が2つのサブタイプを持つことを明らかにした（両者はN末端領域のみ異なっている）。さらにゲノム解析を行い、サブタイプ特異的なエクソンの順序に従って、本研究で新規に同定したバリエーションをAタイプ(CRMP-As)、既知のものをBタイプ(CRMP-Bs)と命名した。以後の解析では、発生期のニワトリ胚神経系において最も強く、また普遍的に発現しているCRMP2AとCRMP2Bに焦点を当てた。
- 2) A、Bタイプに特異的な抗体を用い、*in vitro*、*in vivo*レベルの神経細胞におけるCRMPsの局在を検討した。その結果、CRMP2Aが軸索に選択的に局在するのに対して、CRMP2Bは軸索、細胞体、樹状突起に渡って普遍的に局在することが判明した。
- 3) 線維芽細胞を用いたアッセイ系により、CRMP2AとCRMP2Bがそれぞれ微小管パターンへの配向化とランダム化という対照的な調節活性を持つこと、さらに、これら2つのCRMPsは共存下においてもその対照的な活性を発揮することを明らかにした。
- 4) 網膜移植片培養系を用いて、神経細胞の軸索形成におけるCRMP2AとCRMP2Bの機能的差異について検討した。その結果、CRMP2Bが側枝形成を誘導する一方で、軸索伸長を抑制すること、またCRMP2Aは、CRMP2Bとの共発現時において、その効果を完全に抑制することが判明した。
1)-4)の結果から、CRMP2AとCRMP2Bは対照的な微小管パターン調節活性を発揮することで、軸索成長、さらに神経細胞を含むさまざまな種類の細胞の極性制御に関与すると考えられる（CRMPsは神経系以外でも発現しているため）。
- 5) ニワトリ胚網膜神経節細胞においてCRMP2Aのドミナントネガティブ変異体を

強制発現させた場合、軽度の視神経軸索走行異常の他に、一見正常な視蓋上の投射地図が完成直前で破壊されるという重篤な表現型を見出した。また、テトロドトキシン注入により網膜神経回路の自発的神経活動を抑制した場合、投射地図破壊を阻止することができ、見かけ上ほぼ正常な投射地図が形成されることが判明した。これまで、神経回路網の精密化過程は神経活動依存的な要素と非依存的な要素に分けて論じられてきたが、CRMP2A は前者の過程により強く関与していると考えられる。そして、CRMPs は、細胞骨格系パターン制御のみならず、正しく投射した軸索・神経細胞を保護し、誤って投射した軸索・神経細胞を除去するという、神経活動を利用した軸索・細胞の生存／死の決定にも関与している可能性が考えられる。

以上、本研究により、まだおぼろげながらも CRMPs の正体が見え始めてきた。今後さらに神経回路形成過程におけるその機能を解明していくことで、さまざまな神経疾患の根本的な治療法の開発に繋がる可能性も見えてくると期待する。

主な論文

- 1) Fukada, M., Watakabe, I., Yuasa-Kawada, J., Kawachi, H., Kuroiwa, A., Matsuda, Y., and Noda, M. (2000). Molecular characterization of CRMP5, a novel member of the collapsin response mediator protein family. *J. Biol. Chem.* 275, 37957-37965.
- 2) Yuasa-Kawada, J., Suzuki, R., Kano, F., Ohkawara, T., Murata, M., and Noda, M. (2003). Axonal morphogenesis controlled by antagonistic roles of two CRMP subtypes in microtubule organization. *Eur. J. Neurosci.* 17, 2329-2343.

その他

特許出願：神経成長円錐の新規シグナル制御分子 CRMP

出願日 平成14年5月31日 出願番号 特願 2002-160853