

2007年9月4日

独立行政法人 理化学研究所

2組のタンパク質のペアが脳の神経回路を“区画化”していることを発見

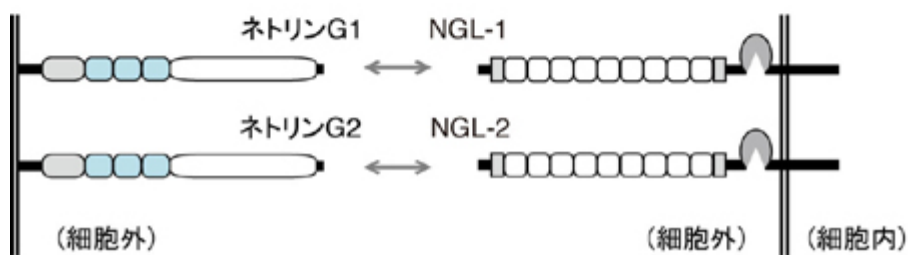
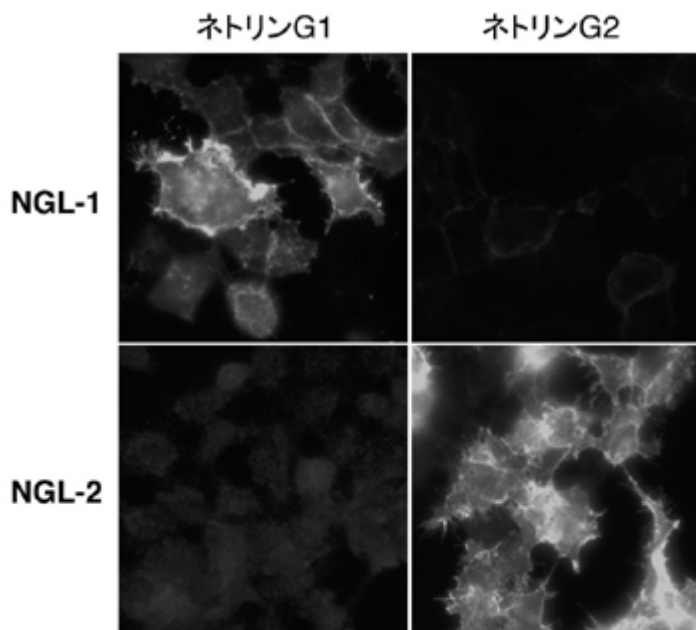
- 複雑な脳における情報伝達経路を整理するシンプルな仕組み -

脳は、膨大な情報を効率良く処理するコンピュータに例えられますが、高速を誇るスーパーコンピュータでさえも負けてしまう高度な情報処理機能を持っています。私たちの脳は、耳や目など外界から入ってくる情報と、思考など脳の中で巡らされる情報を混乱させることなくうまく処理しています。この高精度な情報処理の能力は、神経細胞同士が適切に組み合い、神経回路が構築されていくことで生み出されます。

理研脳科学総合研究センターの行動遺伝学技術開発チームは、脳の内外から入ってくる情報の種類に応じて、情報伝達経路を整理する分子メカニズムを発見しました。

つまり、情報の送り手側である神経細胞の「軸索」には、伝達する情報の種類ごとにタグ（荷札）のような2種類の特定のタンパク質が発現しており、一方、受け手側の神経細胞の「樹状突起」にはこれらのタグを認識する2種類の受容体タンパク質が発現し、神経細胞の中で情報を受け取る領域（区画）の性質を決定していたのです。

今回の発見は、脳が複数の異なる情報を適切に処理する際、2組のタンパク質のペアによって情報の伝達経路を識別している、という意外にシンプルな仕組みが働いていることを示しました。今回の知見を生かし、神経細胞が複数の情報を的確に処理し、統合する機構の解明につながるとともに、その破綻によってもたらされる神経疾患の病理の解明にも役立つと期待されます。



(図) 2組のタンパク質のペアのよって情報の出所を認識
「ネトリン G1 は NGL-1」「ネトリン G2 は NGL-2」

2007年9月4日
独立行政法人 理化学研究所

2組のタンパク質のペアが脳の神経回路を“区画化”していることを発見

- 複雑な脳における情報伝達経路を整理するシンプルな仕組み -

◇ポイント◇

- 多様な情報は情報伝達の経路や種類により“区画化”されている
- “区画化”は2種類の「ネトリンG」とその受容体のタンパク質のペアによる
- 神経細胞が複数の異なる情報を適切に処理・統合する仕組みの理解に道筋

独立行政法人理化学研究所（野依良治理事長）は、脳内外からの多様な情報を処理する神経回路において、複数の情報を、情報伝達の経路や情報の種類によって“区画化”するタンパク質が存在することを発見しました。さらに、情報元の神経細胞にあるタンパク質と、受け手側の神経細胞にあるタンパク質とが1対1の対応関係で作用し、情報伝達経路を整理していることを突き止めました。理研脳科学総合研究センター（甘利俊一センター長）行動遺伝学技術開発チームの糸原重美チームリーダー、西村（穂吉）幸子研究員らによる研究成果です。

神経細胞は、「軸索^{※1}」と呼ばれる突起を伸ばし、情報を他の神経細胞に伝達します。一方、受け手側の神経細胞では、「樹状突起^{※2}」と呼ばれる突起をアンテナのように張りだし、情報を受け取ります。1つの神経細胞は、複数の情報を同時に受け取りますが、多くの場合、それらの情報は樹状突起全体に入り乱れて入力されるのではなく、整然と仕分けされています。つまり、異なった情報を伝達する軸索群が、受け手側の樹状突起の特定の領域（区画）にまとまって結合し、情報を受け渡すことにより、多様な情報を混乱させることなく正確に、かつ効率良く処理していると考えられています。しかしながら、この高度な情報処理の基盤を生み出す分子メカニズムは、ほとんどわかっていません。

研究チームは、情報の送り手側である神経細胞の軸索の表面には、神経回路ごとに2種類の膜タンパク質「ネトリンG1^{※3}」あるいは「ネトリンG2^{※3}」のどちらかが存在し、それらが目印となって異なる情報伝達経路を仕分けしていることを発見しました。一方、情報の受け手側である樹状突起には、ネトリンGの受容体「NGL-1^{※4}」と「NGL-2^{※4}」が発現して、それぞれ樹状突起内を“区画化”していることを見いだしました。さらに、ネトリンG1はNGL-1と、またネトリンG2はNGL-2と選択的に結合する能力を持っており、この1対1の結合特性を利用して、それぞれ異なる情報に対応して、樹状突起内の区画の性質を決めていることを明らかにしました。

今回の発見は、複雑に発達した高等動物の脳の神経回路が、2組のタンパク質のペアによって整理されている、という意外にシンプルな仕組みであることを世界で初めて示しました。今後、神経細胞が複数の異なる情報を適切に処理し、統合させる機構を解明するとともに、その破綻によって生じる精神疾患の病理解明につながると期待できます。

本研究成果は、米国科学アカデミー紀要『*Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America : PNAS*』（9月11日号）掲載に先立ち、9月3日の週にオンライン版へ掲載されます。

1. 背景

ヒトを含めた脊椎動物は、高度な情報処理を行う複雑に発達した神経系を持っており、その特徴のひとつが「層構造」です。層構造は、脊椎動物の脳のさまざまな場所でみられ、似たような種類の細胞集団あるいは神経突起の束が平行に配置されています。この構造は、情報を種類ごとに仕分けし、複数の情報を効率良く適切に処理、統合する基本構造となっていると考えられます。

層構造を形成する個々の神経細胞では、樹状突起と呼ばれる何本もの突起がアンテナのように張り出し、そこで他の複数の神経細胞から伝わってくる異なった情報を受け取ります。異なった情報が1つの神経細胞で合流することにより、新たな情報が作り出されます。この場合、異なる種類の情報が同じ神経細胞に入ってきますが、樹状突起全体に入り乱れて入力するのではなく、多くの場合整然と仕分けされて入ってくるということが知られています。例えば、記憶の形成に重要な海馬の神経細胞では、嗅覚や視覚など記憶の手がかりとなる知覚情報は、海馬の神経細胞の樹状突起の先端部に入りますが、海馬の神経細胞同士のやり取りの情報は樹状突起の根元の方にまとまって入ってきます(図1)。このように、異なる種類の情報を伝達する神経細胞の軸索は、受け手側神経細胞の樹状突起の中でも限られた特定の区画に結合することにより、多様な情報を混乱させることなく適切に処理することを可能にしています。脊椎動物の脳に、このような特徴があることは解剖学的には知られていましたが、それがどのような遺伝子によって構築されているのか、その分子メカニズムはほとんどわかっていませんでした。

研究チームでは、これまでに高等動物で発達した神経回路機構を明らかにするために、脊椎動物にだけ存在する膜タンパク質の遺伝子群を独自に分離し、解析を行ってきました。その内、「ネトリン G1」及び「ネトリン G2」は、神経細胞の軸索の外側にタグ(荷札)のようにぶら下がる形で分布する膜タンパク質です。興味深いことに、この2つの膜タンパク質をコードする遺伝子は、脳のほぼ全域にわたって、それぞれが重複しない神経細胞群に相互排他的に発現するという特徴があります(図2)。研究チームは、主にマウスを用いた研究を行っていますが、よりヒトに近いサルでも同様にネトリン G1 とネトリン G2 の相互排他的な発現パターンが観察できます。このことから、これら2つの遺伝子産物は、脊椎動物の神経系の特徴的構造もしくは機能に関与していると予想し、研究を進めました。

2. タイトル

(1) ネトリンG1 とネトリンG2 の発現分布

膜タンパク質であるネトリン G1 とネトリン G2 を特異的に認識する抗体を作製し、マウスの脳で2つのタンパク質の局在部位を調べました。これまでの研究から、これらのタンパク質をコードする遺伝子は、相互排他的な脳領域の神経細胞に発現することを明らかにしていました。遺伝子の発現領域(mRNAの分布)とタンパク質の分布を照らし合わせて、ネトリン G1 とネトリン G2 は、おのおの独立した神経細胞グループの軸索終末に分布していることを明らかにしました。この分布の違いは、層構造として観察することができます(図3)。

(2) 神経細胞内での“区画”の実体

ネトリン G1、ネトリン G2 と結合する受容体タンパク質 NGL-1、NGL-2 を同定し、以下のことを明らかにしました。

- 1) 定量的な結合実験を行い、ネトリン G1 は NGL-1 と、ネトリン G2 は NGL-2 と特異的に結合することがわかりました (図 4)。
- 2) NGL-1 と NGL-2 をコードする遺伝子の発現細胞を調べたところ、いずれも情報を受け取る側の細胞で高レベルに発現していることがわかりました (図 5)。
- 3) NGL-1 と NGL-2 タンパク質を認識する特異的な抗体を作製し、脳内分布を調べました。NGL-1 は、情報を受け取る側の神経細胞の樹状突起において、限られた特定の区画に集積していました。また、NGL-2 は NGL-1 とは異なる樹状突起内の区画に集積していました。NGL-1 の分布は、ネトリン G1 が発現している神経細胞の軸索が結合する区画に対応し、同様に NGL-2 の分布は、ネトリン G2 が発現している軸索が結合する区画に対応することがわかりました。つまり、ネトリン G1 およびネトリン G2 の分布と同様に、これら 2 種類の受容体の分布もはっきりとした境界を持った層構造として観察することができます (図 5)。
- 4) 1 つの神経細胞に由来する樹状突起の中には、それぞれの区画に相当する物理的な境界は観察されないため、これまで「樹状突起内の区画」の実体は不明でした。今回の研究で、同一の神経細胞に由来する樹状突起の中に、異なるタンパク質によって“区画化”される独立した領域が存在することを世界で初めて発見しました。

(3) 独立区画の維持にはネトリンG1 とネトリンG2 が必要

遺伝子工学的手法により、ネトリン G1 あるいはネトリン G2 遺伝子が欠損した変異マウスを作製しました。これらの変異マウスの脳では、本来特定の樹状突起内区画に集積して存在する受容体 NGL-1 あるいは NGL-2 が樹状突起全体に拡散していました (図 6)。このことは、軸索上のネトリン G1 およびネトリン G2 タンパク質が、樹状突起上のそれぞれ固有の受容体 NGL-1 および NGL-2 に働きかけ、それらの分布を制御する役割を果たし、樹状突起内の独立区画の性質を決定していることを示しています (図 7)。

特定の軸索に分布する「ネトリン G」と樹状突起の特定区画に分布する受容体「NGL」の相互作用の関係は、海馬の神経細胞に限定されるものではなく、高次の脳機能をつかさどる脳領域である大脳皮質や嗅皮質など、層構造を持つ他の脳領域で同様に観察されます。従って、“ネトリン G とその受容体による神経回路の区画化”の仕組みは、脳内のさまざまな神経細胞のタイプに共通したメカニズムであると考えられます。

3. 今後の期待

神経細胞は、複数の部位から入力された情報を処理し、統合させています。例え

ば、記憶形成に重要な役割を担う海馬の神経細胞では、記憶の手掛かりとなる嗅覚や視覚などの外部からの知覚情報は樹状突起の末端部（先端部）、海馬内で処理された情報のやり取りは細胞体に近い部分が担当することが解剖学的な研究からわかっています。

今回、1つの神経細胞が複数の情報を受け取る際、情報を受け取る場所が、情報伝達の経路や種類によって区画化されることが明らかになりました。これは、高等動物の脳機能の基盤である層構造を構成する重要な要素として「樹状突起の区画化」という新しい概念をもたらすものです。また、非常に複雑に発達した脊椎動物の神経系では、2組のタンパク質のペア、すなわち「ネトリンG1とNGL-1」、「ネトリンG2とNGL-2」の相互作用によって、情報の伝達経路を整理する、という意外にシンプルな仕組みがあることがわかりました。この2組のタンパク質はそれぞれ独立した神経回路で機能するため、今後、例えば記憶が形成される際に必要な情報がどのように統合・処理されているのか、個々の神経回路のレベルで理解する上で大きな手がかりとなります。

一方、情報を適切に統合・処理するための脳内機構の破綻は、精神疾患の病理に直結すると考えられます。研究チームは、2005年に同センター分子精神科学研究チームと共同でヒトの遺伝学的解析を実施し、ネトリンG1およびネトリンG2遺伝子が統合失調症^{*5}に関連する可能性を報告^{*}しています。今回の研究で得られた変異マウスは、モデルマウスとして、今後、脳疾患の病理解明に役立つものと考えられます。

*（参考）BSIニュースNo.31

(<http://www.brain.riken.go.jp/bsi-news/bsinews31/no31/research1.html>)

（問い合わせ先）

独立行政法人理化学研究所

脳科学総合研究センター 行動遺伝学技術開発チーム

チームリーダー 糸原 重美（いとはら しげよし）

Tel : 048-467-9724 / Fax : 048-467-9725

脳科学研究推進部

嶋田 庸嗣（しまだ ようじ）

Tel : 048-467-9596 / Fax : 048-462-4914

（報道担当）

独立行政法人理化学研究所 広報室 報道担当

Tel : 048-467-9272 / Fax : 048-462-4715

Mail : koho@riken.jp

<補足説明>

※1 軸索

神経細胞の細胞体から伸びる細長い突起で、電気的信号を伝える。軸索終末部分には神経伝達物質を含む分泌小胞があり、標的神経細胞と結合してシナプスを形成し、情報を伝達する。

※2 樹状突起

神経細胞の細胞体から伸びる突起で、樹の枝のように分岐する複雑な形態を持つ。神経伝達物質の受容体を発現し、他の神経細胞の軸索終末とシナプス結合を形成することで情報を受容する。

※3 ネットリン G1／ネットリン G2

分泌タンパク質ネットリンと似た構造を持つ膜タンパク質で、研究グループが独自に発見した。ネットリン G は GPI と呼ばれるリン脂質を介して細胞膜の外側表面に結合していることから、GPI 結合の G をとって命名。従来のネットリンは無脊椎動物から脊椎動物まで保存され、神経回路形成の初期過程で軸索誘導因子として機能する。一方、ネットリン G は脊椎動物にのみ存在し、軸索誘導活性は持たず、生体内での機能は不明であった。

※4 NGL-1／NGL-2

米国の研究グループが大規模なタンパク質間相互作用解析を実施し、ネットリン G1 と結合するタンパク質として NGL-1 を報告した。当研究チームでは、遺伝子配列のデータベースを検索し、NGL-1 と良く似た構造を持つ第 2 の分子 NGL-2 を分離した。いずれも脊椎動物に固有の膜貫通タンパク質である。細胞膜の外側部分でネットリン G と結合する。細胞膜の内側部分でシナプス関連分子と複合体を形成し、少なくとも培養細胞を用いた実験系ではシナプスの形成にかかわることが示唆されている。

※5 統合失調症

幻覚（知覚障害）や妄想（思考の障害）、感情障害など多様な症状を示す精神疾患。複数の遺伝子と環境要因が複雑にかかわっていると考えられているが、その病因は不明である。発症のメカニズムについては、「ドーパミン神経伝達異常」、「グルタミン酸神経伝達異常」に加えて「神経発達障害」によるとの仮説が提唱されている。

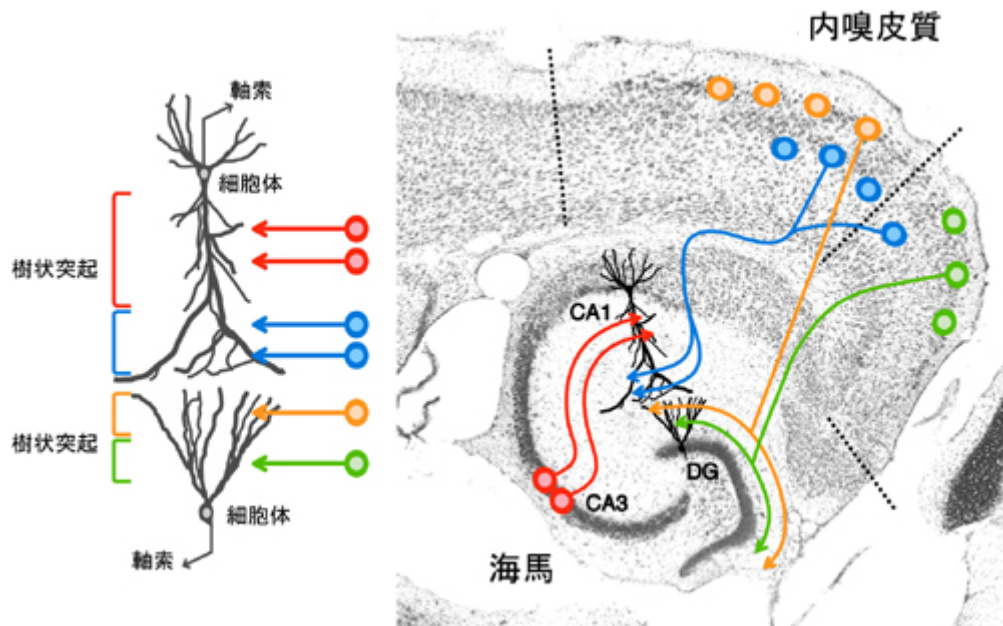


図1 海馬における神経細胞の形態と層特異的神経結合

神経細胞は一定の方向に樹状突起を張り出し、他の神経細胞の軸索から情報の入力を受け取る。脳の異なる場所に由来する、あるいは機能的に異なる神経細胞の軸索（模式的に色別の矢印で表した）は、標的神経細胞の樹状突起の中の特定の領域（区画）に投射してシナプス結合を形成する。比較的単純な海馬の神経回路を例に示すが、このような「異なる軸索集団によって形成される層構造」は脳の様々な場所で観察される。しかし、1つの神経細胞に由来する樹状突起の中には、区画を分ける物理的な境界は観察されない。そのため「樹状突起内の区画」の実体はまったく不明であった。

※ 海馬は「海馬体」と呼ばれる大脳辺縁系の一部である。海馬体は、歯状回 (DG)、アンモン角 (CA)、広義の海馬支脚、嗅内野皮質に分けられる。歯状回における主要な細胞は顆粒細胞であり、アンモン角では錐体細胞である。錐体細胞層は細胞の大きさと形から、さらに CA1、CA2、CA3 と 3 つに分類される。

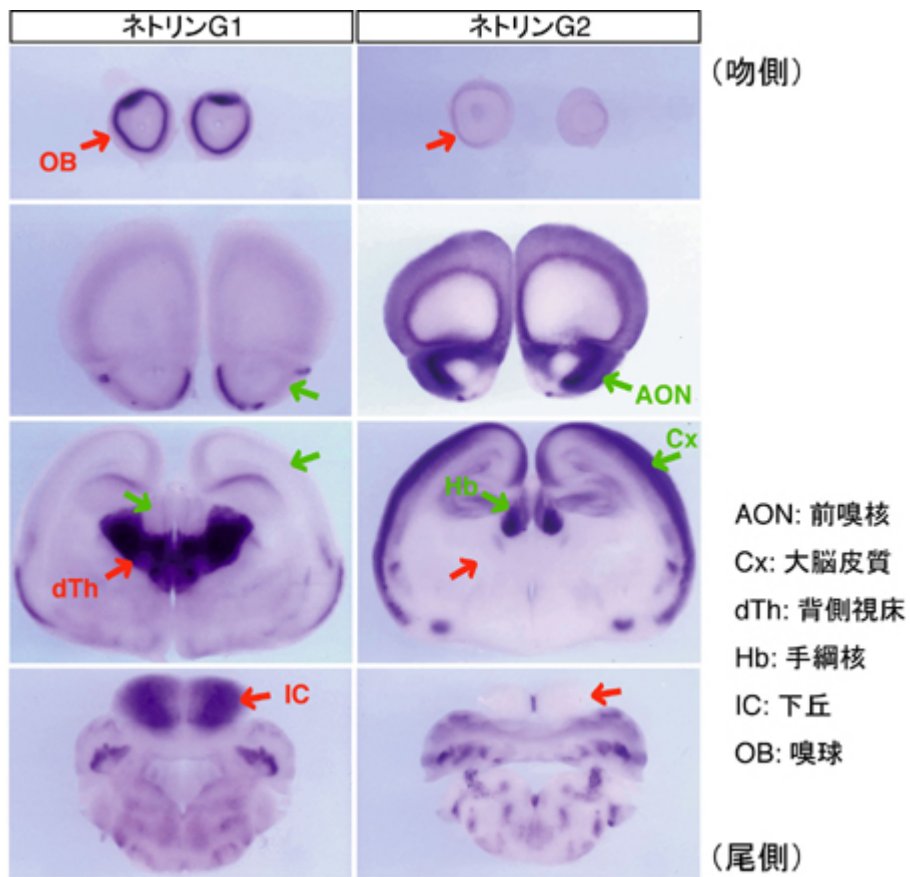


図2 マウス脳におけるネトリン G1、ネトリン G2 遺伝子の発現

ネトリン G1 とネトリン G2 は脳のあらゆる領域で相互排他的な発現パターンを示す。
(Nakashiba, et al., Mech. Dev. (2002) より改変)

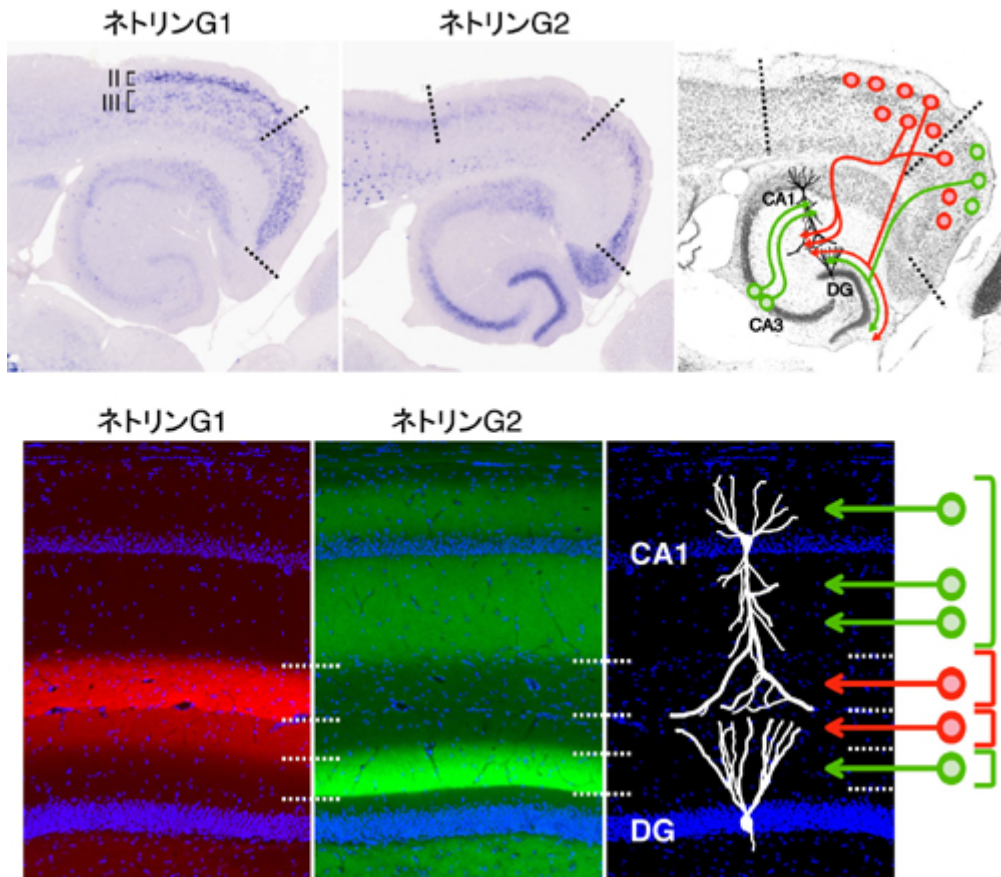
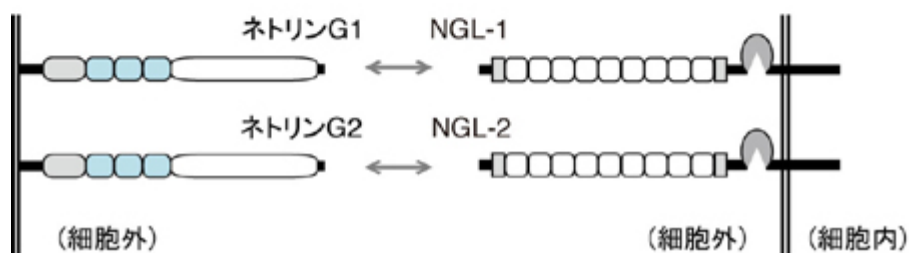
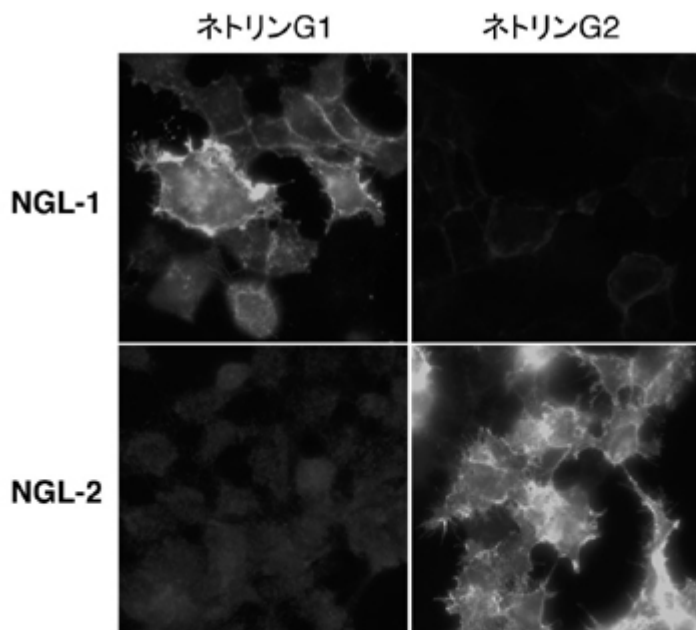


図3 海馬神経回路におけるネトリン G1、ネトリン G2 の分布

- (上段) 海馬の神経回路においてネトリン G1、ネトリン G2 遺伝子は異なる細胞集団で相互排他的に発現する。右の模式図にネトリン G1 (赤) とネトリン G2 (緑) の発現細胞と軸索の投射パターンをまとめた。
- (下段) ネトリン G1 (赤)、ネトリン G2 (緑) タンパク質の層特異的な分布を免疫組織染色で明らかにした。両者はそれぞれ異なる軸索終末に分布する。青色は核染色で細胞体の位置を示す。



(上図) 受容体 NGL-1 あるいは NGL-2 を発現させた培養細胞にネトリン G タンパク質を添加し結合特性を調べた実験。それぞれの受容体に特異的に結合する結果が得られた。

(下図) ネトリン G と受容体 NGL の分子構造。ネトリン G1 は NGL-1 と、ネトリン G2 は NGL-2 と、細胞外部分で特異的に結合する。

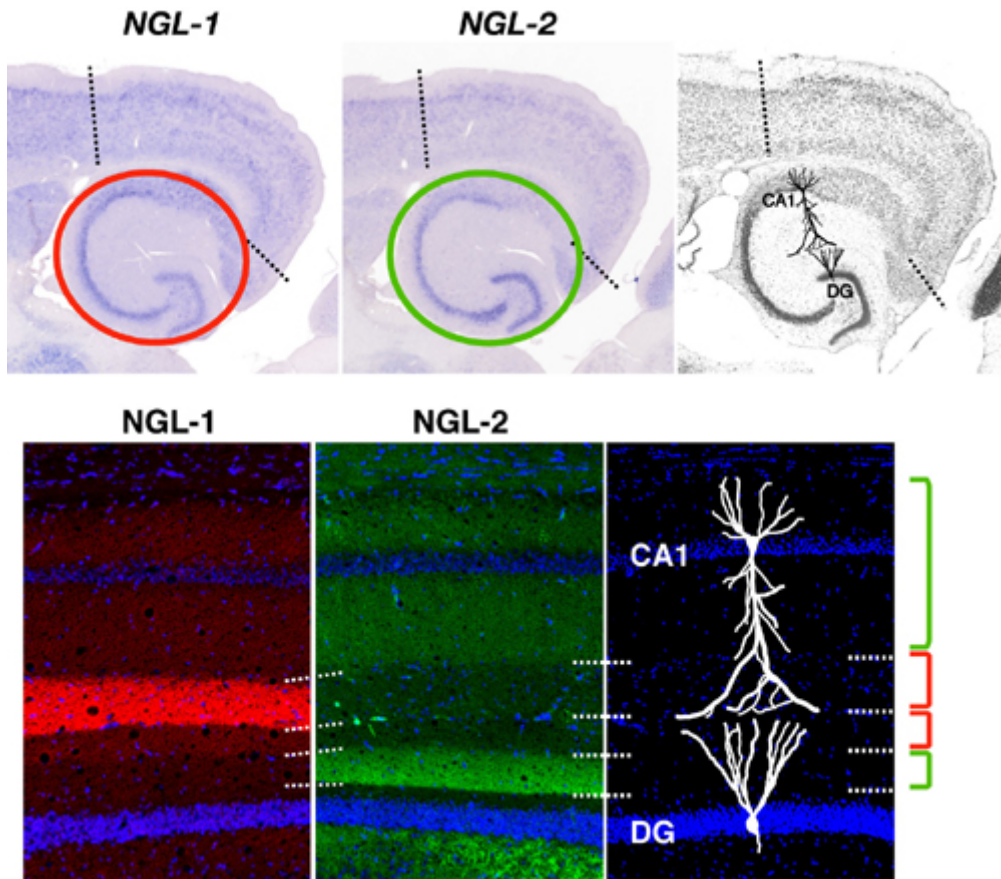


図5 海馬神経回路における NGL-1 と NGL-2 の分布

(上段) ネットリン G の相互排他的発現とは異なり、NGL-1 と NGL-2 遺伝子は似た発現パターンを示す。いずれも海馬の神経細胞で高く発現する。

(下段) NGL-1 (赤)、NGL-2 (緑) タンパク質の免疫組織染色。青色は核染色で細胞体の位置を示す。同じ細胞で発現するにもかかわらず、タンパク質の分布は全く重ならない。NGL-1 は遠位 (細胞体から遠い部位) の樹状突起内区画に分布する。一方 NGL-2 は近位の樹状突起内区画に分布する。図 3 で示したネットリン G1、ネットリン G2 タンパク質の分布と対応していることがわかる。

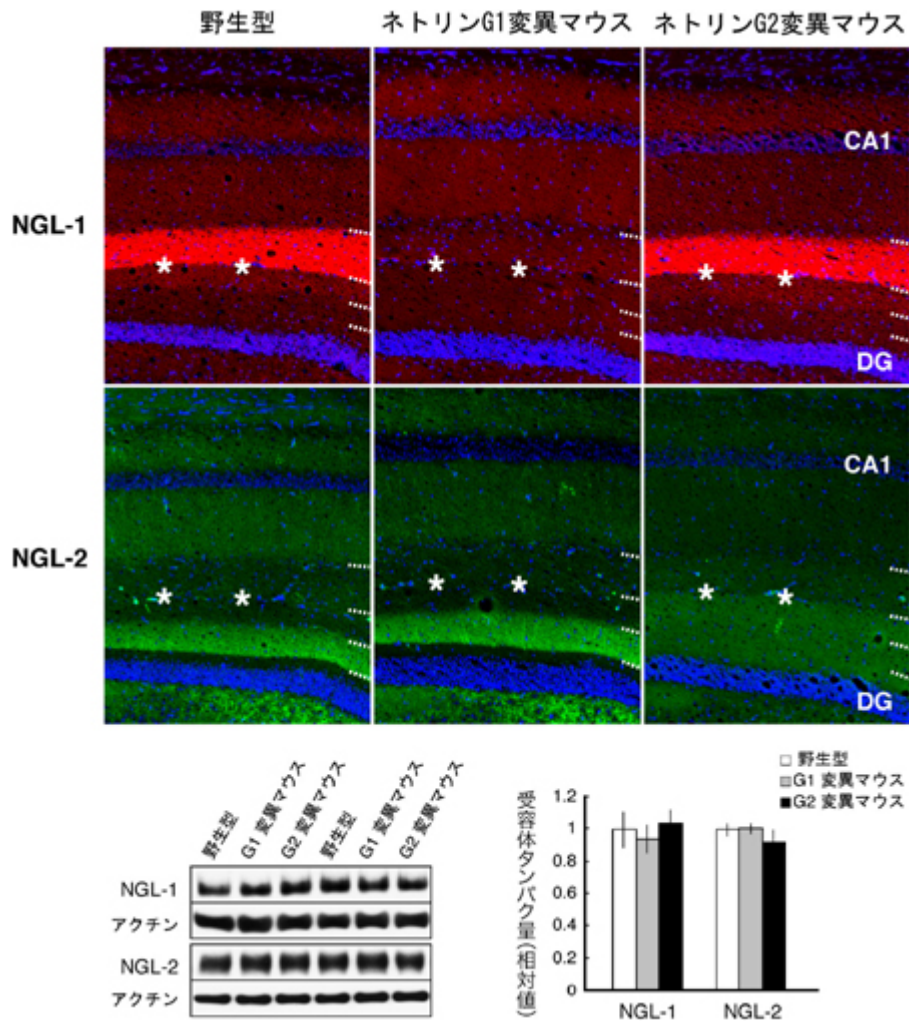


図6 ネットリンG欠失変異マウスにおける受容体の分布

(上図) ネットリン G1 変異マウスでは、NGL-1 の層特異的な分布のパターンが消失する。同様にネットリン G2 変異マウスでは、NGL-2 の層特異的な分布のみが消失する。

(下図) ウェスタンブロット解析により、ネットリン G 変異マウスの海馬における受容体タンパク質量を測定した。野生型と比較して、受容体の量に違いは見られない。変異マウスにおいては、受容体量の減少ではなく、拡散によって NGL の分布パターンが変化していることを裏付ける。

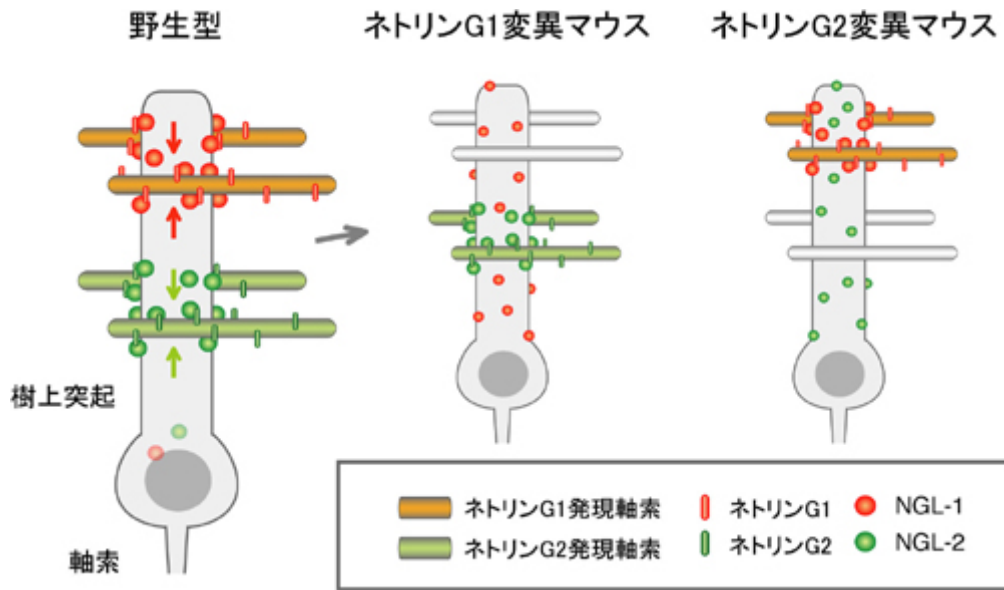


図7 ネットリンGによる樹状突起内の区画形成のモデル

ネットリンG1とネットリンG2は、それぞれ異なる軸索上に分布する。一方、受容体NGL-1とNGL-2は標的神経細胞で発現している。軸索-樹状突起の結合部において、ネットリンGは特異的な受容体をトラップし、特定の樹状突起内の区画に配置する。ネットリンG1あるいはネットリンG2がないと、受容体は区画に保持されず樹状突起全体に拡散する。