

32      フェレットを用いた大脳形成と進化の分子機構の解明	河崎 洋志
----------------------------------	-------

**【目的】** ヒトに至る哺乳類の進化の歴史のなかで大脳は著しく発達してきた。大脳は巨大化し、表面には多くの脳回（表面の皺）が形成された。神経細胞が増加したのみならず、アストロサイトなどのグリア細胞も増加してきた。このような発達した大脳の形成機構や大脳の進化の分子機構の解明は重要な研究課題のひとつであるが、マウスよりも大脳が発達した哺乳動物を用いた分子生物学的研究技術があまり整備されていなかったことから、これらの研究は遅れていた。そこで我々は、サイズが大きく脳回を持つなど大脳が発達した食肉類哺乳動物フェレット (*Mustela putorius furo*) に着目して研究を進めてきた。我々はフェレットを用いた研究を推進するために、フェレットに使用可能な分子生物学的研究技術を独自に確立してきた。これらの技術を用いて我々は、大脳皮質神経細胞の増加と脳回形成に線維芽細胞増殖因子 (FGF) シグナルとソニックヘッジホッグ (Shh) シグナルが重要であることを報告してきた。本研究ではグリア細胞であるアストロサイトに焦点を絞り、進化の過程でアストロサイトを著しく増加させてきた分子機構を解析した。

**【方法】** 子宮内電気穿孔法は以下の手順で行った。深麻酔したのちに胎仔の側脳室へプラスミド溶液を注入した。エレクトロポレーターECM830を用いて50~100 V、50 msの電気パルスを1秒間隔で5回、胎仔に処置した。電気穿孔が終了した後に、胎仔を腹腔内に戻した。免疫組織染色法は以下の手順で行った。組織を固定し30%スクロースで処理し、OCT compoundに包埋した。クリオスタットを用いて切片を作製した。ブロッキングののちに1次抗体を4°Cで一晩反応させた。洗浄したのちに、蛍光物質で標識した2次抗体で室温2時間反応させた。洗浄したのちにカバーガラスで封入した。

**【結果】** 1. フェレットとマウスの大脳皮質アストロサイトにおける遺伝子発現の比較解析：公開データベースで解析した結果、FGF1がマウスのアストロサイトで多く発現していることがわかった。マウスと同様にフェレットのアストロサイトでもFGF1が高発現していた。さらにフェレットのアストロサイトにFGF受容体FGFR2とFGFR3が発現していた。おもしろいことに、マウスに比べて、フェレットのアストロサイトでFGF1の発現量が著しく多いことがわかった。2. アストロサイトの増殖におけるFGFの重要性：これらの結果から我々は、アストロサイトから分泌されるFGF1がアストロサイトの分裂を促進するというautocrine的なメカニズムがあると仮説を立てた。この仮説に一致して、フェレット大脳皮質アストロサイトをFGF1で処理したところ、Ki-67陽性率が増加した。逆にFGFR阻害剤であるBGJ398で処理したところ、Ki-67陽性率が減少した。3. 脳回形成におけるアストロサイトの重要性：脳回を持つ動物ではアストロサイトが多い傾向にあることから、アストロサイトの増加が脳回形成に重要であると仮説を立てた。子宮内電気穿孔法を用いて、フェレット大脳皮質で選択的にアストロサイトを減少させたところ、脳回形成が阻害された（下図）。本研究よりアストロサイトの数の制御機構と、脳回形成におけるアストロサイトの重要性が明らかとなった。

フェレットを用いた脳回形成におけるアストロサイトの重要性の解析

