

46 Wntシグナルの時間的制御による神経細胞の形態変化 野村 真

【目的】 大脳皮質の発生過程において、神経前駆細胞から分化した興奮性の神経細胞は脳の内側から表層（軟膜側）へと放射状に移動し、大脳皮質に特徴的な6層構造を構築する。発生の時期に依存した神経細胞の分化と移動の精緻な制御は大脳皮質の局所神経回路網の構築に不可欠であり、大脳皮質発生プログラムの破綻は長期ライフステージにおける高次脳機能の発達に深刻な影響を及ぼす。Wntシグナルはこうした大脳皮質の発生過程における神経細胞分化、移動に重要な役割を果たすことが明らかとなっている。そこで本研究では、Wntシグナルの活性を細胞内で制御するタンパク質の1つであるGsk3βに着目し、大脳皮質の発生過程におけるGsk3βの転写制御に関わるシス・トランス制御因子を明らかにすることで、神経細胞の分化・移動におけるWntシグナル活性の細胞自律的な制御メカニズムを解明することを目的とした。

【方法】 まず、ENCODE (Encyclopedia of DNA Elements) のエピジェネティックデータを参照することにより胎児期マウス大脳皮質におけるオープンクロマチン状態を検討し、シス制御領域の候補となるゲノム領域を同定・単離した。この配列がGsk3βの時間的発現制御モジュールとしての活性を持つかどうか、神経前駆細胞あるいはHEK細胞を用いたリポーターアッセイにより検討した。さらに、単離した発現モジュールの活性を変化させるトランス因子を同定するため、神経前駆細胞あるいは神経細胞で発現する様々な転写因子をリポータープラスミドと共に培養細胞に導入し、ルシフェラーゼの発現変化を測定した。また、Gsk3βのゲノム配列の種間比較を行い、シス制御領域の保存性と実際の遺伝子発現との対応について *in situ hybridization* 法によって検討した。

【結果】 マウス E14.5 の前脳クロマチン免疫沈降法に基づく ENCODE データより、Gsk3βの5'側2 kb領域が神経前駆細胞あるいは神経細胞におけるシス制御領域として機能することを見出した。さらに、このシス制御領域(2 kbプロモーター領域)は神経前駆細胞で発現するSoxファミリー転写因子によって活性化されること、また神経分化を促進するNeurogenin2によって抑制されることを見出した。さらに、2 kbプロモーター領域の配列の種間比較を行ったところ、この領域の配列は哺乳類間で高度に保存されていること、また羊膜類の各系統においては配列の多様性が見られることが明らかとなった。Gsk3βの発現が哺乳類と爬虫類で高度に保存されている知見と合わせると、Gsk3βを介したWntシグナルの時間的制御には種特異的なゲノム配列の進化が基盤となっている可能性が示唆された。

哺乳類および爬虫類大脳皮質におけるGsk3βの発現とシス制御領域の多様性

