

# 再生阻害因子が成長円錐をはねのける仕組みを解明

損傷した神経回路修復技術への応用に期待

2010年5月13日プレスリリース

感覚、運動、記憶、学習など脳の活動は、多数の神経細胞から伸びた神経突起が精巧に絡み合って構築される神経回路によって営まれている。神経回路が構築される際、神経突起の先端部「成長円錐」(図1)が周囲に存在する分子を感受して、神経突起の伸長を正しい方向へ導く。神経回路が切断されると、切断された端が新たに成長円錐となり、神経突起が伸長して神経回路を再構築しようとする。しかし、損傷組織がつくる再生阻害因子が成長円錐をはねのけるため、神経突起は損傷部位を通過することができない。今回、理研脳科学総合研究センター 神経成長機構研究チームは、再生阻害因子が成長円錐をはねのける仕組みの解明に成功。損傷した神経回路修復技術への応用につながると期待される今回の成果について、上口裕之チームリーダーに聞いた。

——成長円錐はどのように神経突起を正しい方向へ導くのですか。

**上口：**成長円錐は細胞周辺にある「ガイダンス分子」を感受して、神経突起の伸長を正しい方向へ導きます。ガイダンス分子には、成長円錐を引き寄せる誘引性ガイダンス分子と、成長円錐をはねのける反発性ガイダンス分子があります。ガイダンス分子が成長円錐表面の受容体と結合すると、成長円錐内に「細胞質カルシウムイオン ( $Ca^{2+}$ ) シグナル」がつくられるのですが、そのガイダンス分子が誘引性のときは誘引性  $Ca^{2+}$  シグナルが、反発性のときは反発性  $Ca^{2+}$  シグナルがつくられます。私たちは2006年、誘引性  $Ca^{2+}$  シグナルが成長円錐を誘引方向に旋回させる仕組みの解明に成功しています。しかし、反発性ガイダンス分子が成長円錐をはねのける仕組みは謎のままでした。

●

——その謎にどのように挑んだのですか。

**上口：**「セマフォリン3A (Sema3A)」は代表的な反発性ガイダンス分子かつ再生阻害因子であり、反発性  $Ca^{2+}$  シグナルを介して成長円錐をはねのけます。図2で示すように、培養液中の右上からSema3Aを投与してSema3Aの濃度勾配をつくり、その中を伸長する成長円錐を全反射蛍光顕微鏡で観察しました。すると、Sema3Aの高濃度側に面した成長円錐の右側で、形質膜(細胞表面の膜)の一部が細胞内に取り込まれる「クラスリン依存性エンドサイトーシス」が促進されました。その後、成長円錐はSema3Aを避けて濃度の低い左方向に伸長しました(図2A)。

次に、培養液に薬剤を添加してクラスリン依存性エンドサイトーシスを抑制してみたところ、成長円錐は逆にSema3Aの濃度が高い右方向に伸長しました(図2B)。これは、再生阻害因子が成長円錐をはねのけるためには、クラスリン依存性エンドサイトーシスが必須であることを示しています。

これらの実験から“再生阻害因子はクラスリン依存性エンドサイトーシスを成長円錐内で左右非対称化することで、成長円錐をはねのける”という仕組みが明らかになりました。

●

——今後の展開は。

**上口：**本研究で明らかになった反発性ガイダンスの基本原理

図1 神経突起と成長円錐の形態

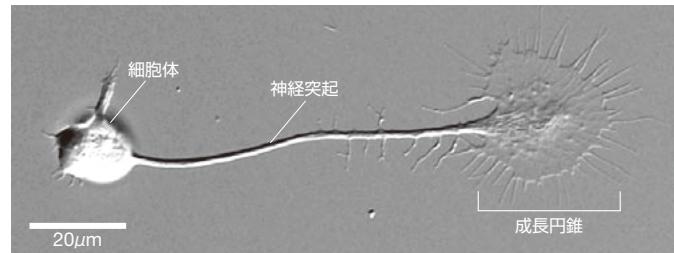
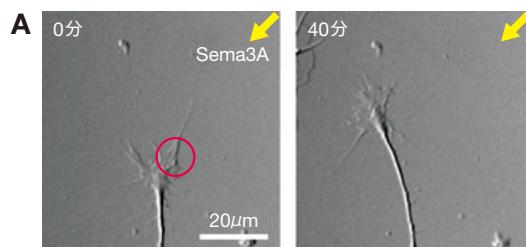
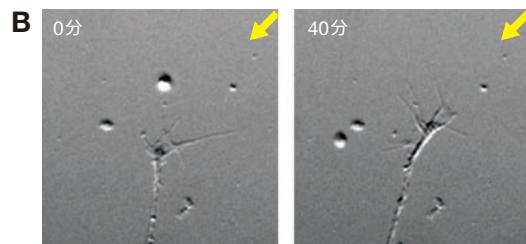


図2 培養液中の成長円錐の動き (Sema3A投与開始時と40分経過後の観察)



矢印の方向からSema3Aを投与すると、成長円錐の右側部分(赤丸)に反発性  $Ca^{2+}$  シグナルがつくられ、クラスリン依存性エンドサイトーシスが促進される。その後、成長円錐はSema3Aの濃度が低い左方向に伸長した。



あらかじめ培養液全体にクラスリン依存性エンドサイトーシスの阻害剤を添加。その後、矢印の方向からSema3Aの投与を開始。クラスリン依存性エンドサイトーシスを抑制した成長円錐は、Sema3Aの濃度の高い右側に伸長した。

を、損傷した神経回路の修復技術へと発展させることを目指します。再生阻害因子が成長円錐の膜動態を制御する仕組みをピンポイントで操作する方法の開発や、複数の再生阻害因子が共存する生体損傷組織での修復技術の有効性の検証など、多くの課題が残されています。

R

●『Neuron』(2010年5月13日号)掲載