

# 脳発生分野

## Department of Brain Morphogenesis

完成した脳では、領域ごとに異なる形態的特徴と機能分担が見られる。当研究室では、このような脳の領域特異性の確立に関わる細胞自律的な遺伝子発現プログラム、および細胞・組織間相互作用を明らかにしてきた。さらに、最近では、領域性を獲得した神経前駆細胞が、増殖と分化を繰り返す神経組織構築の基本原理を通して、いかに異なる組織形態を形成するかを解明すべく研究を行っている。

Generation of distinct classes of neurons which are allocated at the specific sites and construction of histologically divergent tissues, such as layers and nuclei, is fundamental processes during the brain development. Our laboratory has been studying the mechanisms underlying regional specification of the vertebrate brain. The embryonic brain that consists of a sheet of neuroepithelia is subdivided into many domains or compartments, which can be recognized by expression of a number of transcription factors and signaling molecules. The major issues here are how those molecularly distinct patterns are created and how the regionally defined neural progenitors generate divergent cytoarchitecture through an apparently common basic principle of neurogenesis. We are addressing those issues by means of molecular and cellular biology, experimental embryology, live imaging, and genetics.

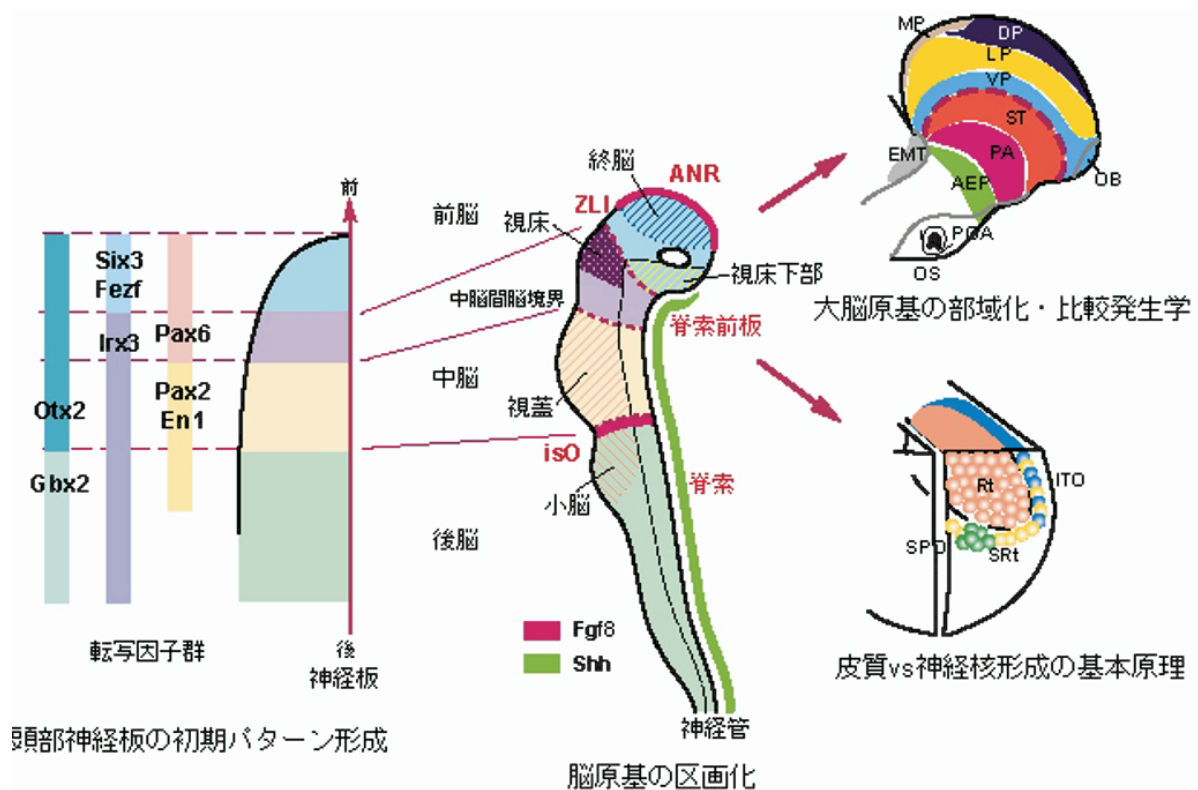


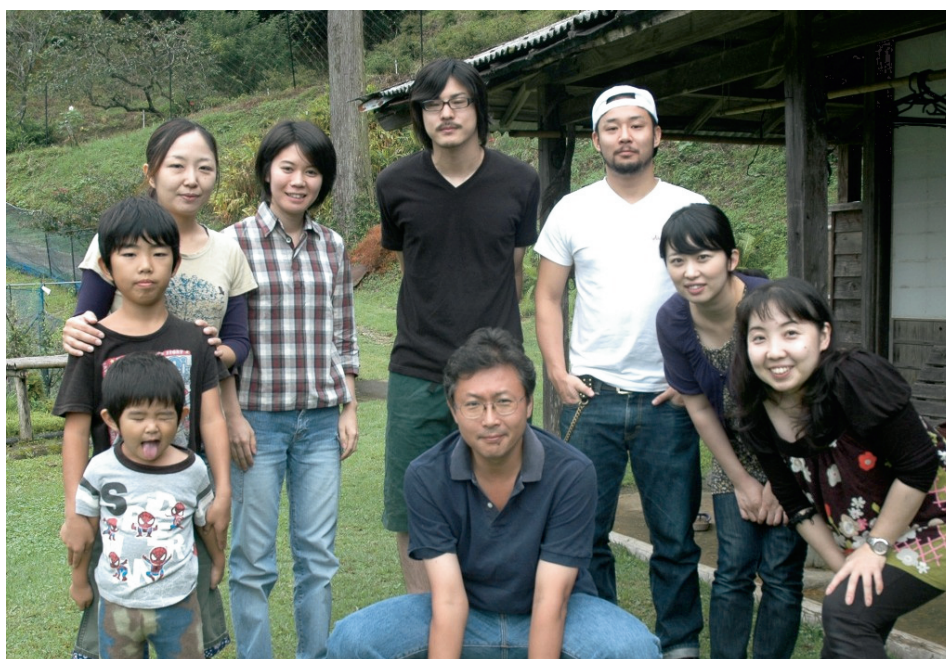
図1. 脳原基のパターン形成から領域特異的組織構築まで

## 構成員 Staff (2012.3)

名前	職名	Name and Position
嶋村 健児	教授	Kenji Shimamura, Professor
畠山 淳	助教	Jun Hatakeyama, Assistant Professor
佐藤 晴香	特定事業研究員	Haruka Sato, Postdoctoral Fellow
楠浦 順子	技術補佐員	Junko Kusuura, Technical Assistant

## 元在籍者 Staff in the past (2008.4～2012.3)

名前	Name	在籍期間	在籍時職名	転出先
樋口（室井）貴子	Takako Higuchi	2003.4.1 -2009.3.31	技術補佐員	中村学園大学
竹ノ内 裕美	Hiromi Takenouchi	2009.8.1 -2010.4.30	技術補佐員	
吉田 道生	Michio Yoshida	2004.4.1 -2009.6.30	助教	理化学研究所
齋藤 慎二	Shinji Saitoh	2008.4.1 -2010.3.31	大学院生	
曲棍 智子	Tomoko Magarikaji	2010.9.1 -2010.9.30	技術補佐員	済生会病院
中嶋 秀行	Hideyuki Nakajima	2010.9.1 -2011.3.31	技術補佐員	奈良先端科学技術大学院
大園 一隆	Kazutaka Oozono	2010.7.1 -2011.6.30	大学院生	熊本大学病院
野間口 桃代	Momoyo Nomaguchi	2010.9.1 -2011.9.30	技術補佐員	株式会社ニトリ
森山 大志	Daishi Moriyama	2011.5.1 -2012.1.31	技術補佐員	熊本大学自然科学研究科



楠浦

佐藤

嶋村

畠山

我々は、動物の形作りの基本原理を明らかにするために、脊椎動物胚の脳・神経組織を具体的な題材として研究を行っている。脳・神経系では、領域や部位によって異なる機能分担と形態的特徴が顕著であり、それが高次機能発揮のための構造的基盤となっている。このような脳の領域特異性は、発生初期に始まる一連の様々なパターン形成によって確立される。発生期における中枢神経系の幹細胞である神経上皮細胞およびラジアルグリア細胞（以下、神経前駆細胞と称す）は、増殖・自己複製しつつ、ニューロン、グリア細胞等の脳の構成細胞を産生する。領域特異性という切り口から、脳・神経系の形態形成の基本原理を明らかにすることが当分野の一貫した指針であり、当該研究フィールドにおける立ち位置である。

これまでの研究で、遺伝子発現によって可視化される神経前駆細胞の領域性の決定機構、そこから誕生する神経細胞の部位特異的な形質の決定機構の一部を明らかにし、この研究領域の進展に貢献した。他の知見も合わせ、中枢神経系の初期の領域化機構に関しては、大筋の理解、および基本概念の創出は既に一定の域に達したと考えている。そこで、位置情報を獲得した神経前駆細胞がいかに領域特異的な組織形態を生じるかについて集中的に取り組んでいる。脳の基本的な組織形態として、ニューロンが層状に配置する皮質と、ニューロンの集合塊が立体的に配置する神経核があり、脳の領域によって呈する組織形態が異なっている。しかし、神経前駆細胞が増殖・自己複製し、ニューロン、グリア細胞を産生する原理は広く共通である。したがって、この普遍原理のいかなるパラメーターの変化によって異なる組織形態がもたらされるかを解明し、神経前駆細胞の領域性を規定する因子との連携を明らかにするべく研究を推進中である。

得られる知見は、発生生物学、神経生物学上の学術的価値に加え、再生医学において細胞レベルから組織レベルをめざす際の生物学的基盤となることが期待される。また、脳の形態、組織構造は、脊椎動物間できわめて高度に多様化

している。領域による違いを生じるしくみと、種間の違いをもたらすしくみを比較検討することにより、究極的には脊椎動物の脳の多様化・進化の一端を明らかにすることを目指している。

### 1. 新たな神経分化調節機構の発見

神経前駆細胞は、細長く伸びた偽重層上皮細胞であり、脳室側（apical 側）では細胞接着帯によって隣接する細胞と強固に結合しているものの、細胞周期に応じて核の位置を変え、脳室側で分裂する。また、分裂によって生じたニューロンは、林立する神経前駆細胞の間隙を移動して基底膜側に蓄積する。つまり、神経前駆細胞はきわめて動的な環境にあり、接着帯で強固に結合する脳室側を除き、隣接する細胞との膜間距離は常に変動している。一般に、ニューロンは誕生後すみやかに脳室帯から離脱するとされていたが、突起によって前駆細胞と接着帯を一過的に形成していることを明らかにした。神経分化の調節に中心的な役割を果たし、膜貫通タンパク同士のシス相互作用を伴う Notch シグナルと細胞接着帯の機能的関係を検討した結果、両者が協調的に作用して、ニューロン産生のペースを調節するというモデルを提唱した。接着帯によって Notch シグナルが安定に活性化され、前駆細胞の未分化性が保たれる一方、接着帯を乖離することで即座に Notch シグナルが不活化され、ニューロン分化が促進される（図 2 参照）。

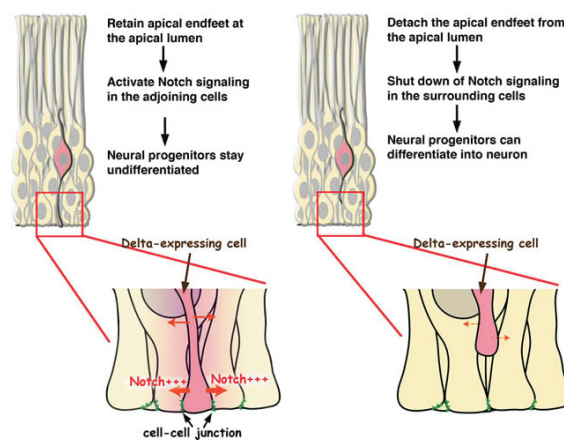


図 2. 幼若ニューロンの突起の脱着による神経前駆細胞の分化調節



幼若ニューロンが、脳室帯の突起の脱着によって神経前駆細胞の分化を制御するというアイデアは、神経分化における全く新しい概念である。接着帯ダイナミクスの制御による Notch シグナルの時間的・定量的な調節によって異なる組織形態が生じるという仮説を検証中である。

## 2. 脳原基の形態形成における境界細胞の役割

脳原基では、パターン形成によって獲得した神経前駆細胞の領域性を維持するために、境界細胞と呼ばれる細胞群が存在している。境界細胞を欠く変異マウスでは、脳の形態形成に重篤な異常を生じるが、その発症機序は不明である。我々は、境界細胞の発生、および脳原基の形態形成上の役割を明らかにすることを目指している。境界細胞が有する形態学的、分子的特徴を解析した結果、境界細胞に共通の形質をもつ細胞群として、新規の境界細胞を予定視交叉近傍に同定した (図3参照)。現在、その役割について、眼胞形成と大脳基底核隆起形成に注目して解析を行っている。

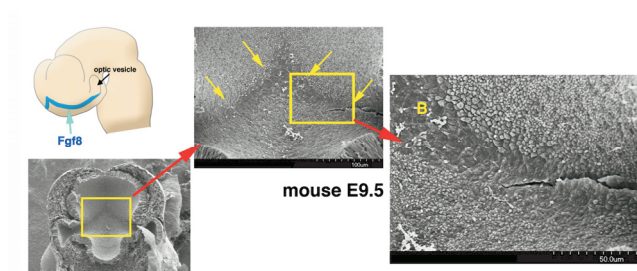


図3. 新規境界細胞の同定

## 3. 大脳原基の比較発生学

大脳原基の正中に発現する Fgf8 は、モルフォゲンとして大脳皮質の領野パターン形成に中心的な役割を果たすことが知られている。この Fgf8 の発現は、魚類からほ乳類に至るまで、脊椎動物間で高度に保存されているが、脳の初期発生における機能には共通性があるものの、大脳皮質をもたない脊椎動物での発生後期の機能は不明である。我々は、鳥類胚における正中 Fgf シグナルの機能を明らかにすることで、哺乳類が大脳皮質獲得に至った進化的背景についての洞察が得られるのではないかと考え、解析を行っている。

さらに、課題1で述べた接着帯による神経分化調節について、マウス・ニワトリ間で比較検討することにより、領域間で異なる組織構築と種間で異なる組織構築の関連について研究している。

## 4. 大脳皮質領野形成における視床線維の役割

哺乳類の大脳新皮質では、領野と呼ばれる領域性が形成される。それぞれの領野は、担う神経機能が異なる他、層の厚みが異なるなど構造的にも異なっており、一見均一に見える大脳皮質内の形態的な不連続性として同定される。このような領野間の形態的、構造的差異をもたらすしくみについて、視床からの入力線維に注目して研究を行っている。

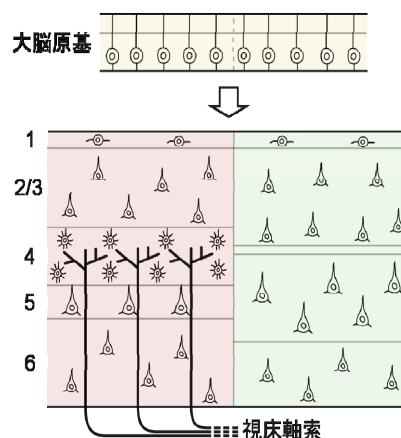


図4. 大脳皮質領野間での細胞構築と入力線維投射の違い

Our ultimate goal in biology is to understand how the animals shape their bodies both externally and internally during development, a process called morphogenesis. We have been studying morphogenesis of the embryonic brain of vertebrate as a model system. In particular, we focus on the regional diversity explicitly exhibited in both developing and mature brain. Numerous studies, including ours, have established a principle scenario or outline for how the embryonic brain is patterned and each brain primordium acquires its regional identity during the early phase of development. However, it still remains to be understood how the neural progenitors at different locations generate distinct cytoarchitecture and histological organization according to their assigned regional identities. Yet, the basic principle of neural histogenesis is apparently common throughout the



brain; the neural progenitors undergo extensive cell division to produce themselves and constituents of the CNS, neurons and glia; neurons produced at the inner side of the ventricular wall then migrate outwards radially to populate marginal regions of the brain vesicles; in some cases they also migrate tangentially. Our current working hypothesis is that temporal and quantitative differences in kinetics of the basic principle would eventually lead to the distinct structures such as cortices and nuclei. These structural differences among the different regions within a single species are also found among different vertebrate species. We would like to know whether the same mechanisms operate to generate species' difference of the brain structures to gain an insight into how the vertebrates evolve their brain. We believe that our research outcomes will also help development of various technologies in regenerative medicine.

#### 1. Novel mechanisms for regulation of neurogenesis.

It is generally accepted that nascent neurons born at the ventricular surface of the brain lose their anchoring at the ventricular zone to migrate basally. We found however that neurons retain the apical processes by maintaining the adherens junction for limited period of time. We further revealed that these neuronal apical processes serve as switch for neurogenesis through Notch signaling. The retention period of the apical endfeet through dynamics of the adherens junction could be reflected by the pace of neuron production. We are currently addressing the possibility that temporal and quantitative differences in Notch signaling created by the dynamics of the adherens junction lead to the regionally distinct histological organization of the brain tissues.

#### 2. Roles of the boundary cells in the morphogenesis of the brain vesicles

After the compartments or domains being specified in the sheet of neuroepithelia, a specialized cell population called boundary cells are generated at the interfaces of the compartments which maintain and pattern the flanking domains. Mice that lack the boundary cells exhibit severe deformation of the brain vesicles. We have been studying roles of the boundary cells in morphogenesis of the brain vesicles. Through intensive analyses of morphological, cellular and molecular characteristics of the boundary cells, we identified novel boundary cells at the ventral limit of the preoptic area where the optic chiasm is formed later

in development. We continue to investigate possible roles of this novel boundary in the formation of optic cup and ganglionic eminences of the telencephalon.

#### 3. Role of the dorsal midline FGF signaling in the pallium development of the non-cortical animals

It has been shown that FGF signaling emanating from the dorsal midline of the telencephalon play a central role in patterning of the neocortical areas in mammals. While the midline expression of FGF8 is well conserved among the vertebrate species, it is not known functions of this FGF signaling in the vertebrates that do not evolve the neocortex and cortical areas. We have been addressing this issue using chick embryos. The results obtained so far suggest that FGF signaling is not involved in regional patterning, but solely regulating proliferation of the progenitor cells in the chick dorsal telencephalon. It is currently under investigation whether this difference underlies evolution of the telencephalon or it may imply uncovered mechanism for neocortical area patterning in mammals.

#### 4. Role of the thalamic afferents in the areal differentiation of the neocortex.

The mammalian neocortex is organized into functionally and histologically distinct subregions called cortical areas. It has been reported that intrinsic mechanisms within the cortical primordium initially pattern the spatial organization of the neocortical areas. However, it was recently shown that secreted factors emanating from the thalamic afferents that innervate the specific areas could influence some cytoarchitectonic features of the neocortex in vitro. Since then, we have been investigating roles of the thalamic afferents in the development of the cortical areas in conjunction with the potential plasticity of the developing neocortices in vivo.

## 論文目録 Publications

1. Hatakeyama, J., and Shimamura, K. Method for electroporation for the early chick embryo. *Develop. Growth Differ.* 50, 449-452, 2008.
2. Katsumoto, K., Fukuda, K., Kimura, W., Shimamura, K., Yasugi, S., and Kume, S. Origin of pancreatic precursors and the mechanism of endoderm regionalization in chick embryos. *Mech. Dev.* 126, 539-551, 2009.
3. Kageyama, R., Ohtsuka, T., Ohsawa, R., and Hatakeyama, J. Helix-loop-helix (bHLH) protein: Hes family. Encyclopedia of Neuroscience, Vol.4, 1057-1065, Oxford Academic Press, 2009.
4. Hatakeyama, J., and Shimamura, K. Method of electroporation for the early chick embryo. In "Electroporation and Sonoporation in Developmental Biology", 43-54, Springer, 2009. (Book chapter)
5. Hatakeyama, J., Wakamatsu, Y., Shigemoto, R., Shimamura, K. The adherens junction serves as a switch for neurogenesis by facilitating Notch-Delta interaction in vertebrate, manuscript submitted.
6. Oozono, K., Komiya, S., Shimamura, K., Ito, T., and Nagafuchi, A. Defining the roles of alpha-catenin in cell-cell adhesion and cytoskeleton organization: isolation of F9 cells completely lacking cadherin-catenin complex. *Cell Struct. Funct.* 36, 131-143, 2011.
7. 嶋村健児、「脳原基のホールマウント *in situ* ハイブリダイゼーション」、細胞工学 28, 1083, 2009.
8. 嶋村健児、「花形因子とは?」、細胞工学 31, 455-456, 2012.

## 学会発表目録 Meeting Presentations

1. Hatakeyama, J. and Shimamura, K., "The adherens junction is required for the regulation of neural differentiation", 日仏合同発生生物学会 (Frontiers in Developmental Biology), September 13-17, 2008, Giens Peninsula, France.
2. Shimamura, K., "Role of the adherens junction in neural differentiation", UTMD/CDB Joint symposium on vertebrate organogenesis, November 20, 2008, Houston, USA.
3. Hatakeyama, J. and Shimamura, K., "Boundary cells in the developing central nervous system", 1<sup>st</sup> Young Embryologist Meeting, November 24, 2008, London, UK.
4. Shimamura, K., "Role of the adherens junction in neural differentiation", UCSF/CDB Joint meeting on vertebrate organogenesis, November 24, 2008, San Francisco, USA.
5. Katsumoto, K., Fukuda, K., Kimura, W., Matsuura, K., Shimamura, K., Yasugi, S., and Kume, S. "The "sliding" between the endoderm and the mesoderm layer in the early embryo is a significant event for pancreas development. International Society for Stem Cell Research 7<sup>th</sup> Annual Meeting, July 8-11, 2009, Barcelona, Spain.
6. Hatakeyama, J. and Shimamura, K., "Role of the adherens junction in neurogenesis", 16<sup>th</sup> international Society of Developmental Biologists Congress 2009, September 6-10, 2009, Edinburgh, UK.
7. Hatakeyama, J. and Shimamura, K., "The adherens junction serves as a switch for neurogenesis via Notch signaling", Notch and Stem Cells, October 3-6, 2010, Athens, Greece.

8. 勝本恵一、福田公子、木村航、嶋村健児、八杉貞雄、糸昭苑 “Analysis of the mechanism of dorsal pancreas specification in the early chick endoderm”、第41回日本発生生物学会大会、2008年5月28-31日、徳島市。
9. 畠山淳、嶋村健児“A role of the adherens junction in neural cell fate regulation”、第41回日本発生生物学会大会、2008年5月28日、徳島市。
10. 嶋村健児「神経分化における接着帯の役割」、京大再生研／熊大発生医研／理研 CDB／慶應大先端医療研ジョイントフォーラム、2009年1月8日、阿蘇市。
11. Hatakeyama, J. and Shimamura, K., “A novel boundary in the developing central nervous system”、第3回神経発生討論会、2009年3月12日、岡崎市。
12. Hatakeyama, J., and Shimamura, K., “Novel boundary cells in the developing central nervous system”、第42回日本発生生物学会大会、2009年5月30日、新潟市。
13. 畠山淳、嶋村健児.「神経分化における接着帯の役割」、第6回宮崎サイエンスキャンプ、2010年2月26-28日、宮崎市。
14. Hatakeyama, J., Shimamura, K., “The adherens junction serves as a switch for neurogenesis”、第43回日本発生生物学会大会、2010年6月20-23日、京都市（口頭＋ポスター発表）。
15. Hatakeyama, J., Shimamura, K., “The adherens junction serve as a switch for neurogenesis by facilitating Notch-Delta interaction in the vertebrate CNS”、第44回日本発生生物学会大会、2011年5月19-21日、宜野湾市（口頭＋ポスター発表）。
16. Hatakeyama, J., Wakamatsu, Y., Shigemoto, R., and Shimamura, K., “The adherens junction serve as a switch for neurogenesis by facilitating Notch-Delta interaction in the vertebrate”、第34回日本神経科学学会大会、2011年9月14-17日、横浜市、口頭発表。
17. Hatakeyama, J. and Shimamura, K., “Pace control of neurogenesis by the apical endfeet of neurons in the cortical development”、第5回神経発生討論会、2012年3月15-16日、福井市、ポスター発表。
18. 佐藤晴香、嶋村健児、山本宣彦、「大脳皮質の発達における視床入力線維の役割」、第5回神経発生討論会、2012年3月15-16日、福井市、口頭発表。