

同志社大学

2015年度 個人研究費研究経過・成果報告書

2016年 5月 30日提出

所 属	職 名	氏 名
脳科学研究科	教授	元山 純
研 究 題 目	胎生後期の脳皮質における神経分化に伴う Shh 分泌機構と応答機構の変化	
研 究 成 果 の 概 要	<p>胎児の脳皮質発生過程での神経幹細胞の細胞分化と細胞分裂を制御する分子機構としての Shh シグナル経路について作用機序の解明を目指して研究を行っている。昨年度は胚期の脳皮質を器官培養し、その期間中に Shh シグナル活性化因子である purmorphamine を、また Shh シグナルの阻害因子である cyclopamine をそれぞれ添加し、細胞分裂活性、分化細胞への移行の解析を行った。その結果、シグナル活性化因子を作用させた場合は因子の濃度依存的に神経前駆細胞の細胞分裂活性の上昇が観察された。興味深いことに高濃度で活性化因子を作用させた場合、神経前駆細胞の分裂活性は高いが、それらから生じる分化した神経細胞の産生は減少していた。逆に Shh シグナルの阻害因子である cyclopamine を添加し、影響をみた。その結果、前駆細胞の分裂活性は抑制されるが、分化神経細胞への変化には影響は無かった。以上から Shh シグナルの作用は、神経前駆細胞の分裂活性にのみ反映している可能性が示唆された。これらの実験結果は、Shh シグナルが神経前駆細胞の分裂活性を活性化している事を示唆しているが、低濃度での活性化と高濃度での活性化の違いが何なのか、分子的な作用経路の実体が不明なままである。</p> <p>そこで今年度では、より脳皮質発生過程の生理的な条件に近い低濃度での Shh シグナルの作用について細胞内でのシグナル伝達経路について着目して解析を行なった。Shh シグナルが細胞に作用すると、直接遺伝子発現の活性化が起こるカノニカル経路と、細胞内にカルシウムが流入し解糖系が活性化されるノンカノニカル経路の2通りが知られている。現在まで、特に胚発生過程ではカノニカル経路のみが知られ、ノンカノニカル経路での作用伝達は知られていなかった。そこで本年度は Shh シグナルが高濃度、低濃度で作用する場合に、活性化が起こる経路が異なるのではないかと仮定して、低濃度と高濃度の Shh シグナル作用下での細胞内経路の比較を行なった。まず</p>	

カノニカル経路の活性化有無を高濃度、低濃度間で比較した。その結果、高濃度での作用では典型的なカノニカル経路特有の遺伝子発現変化が生じたが、低濃度の作用では神経前駆細胞の分裂活性化が起こるにもかかわらず、カノニカル経路の活性化は起こらなかった。次にノンカノニカル経路の指標である大脳皮質組織での細胞内カルシウム濃度の変化を、高濃度と低濃度の **Shh** シグナル活性化因子作用下で生きたまま観察する事で比較してみた。その結果、高濃度での作用ではカルシウム濃度変動を示す細胞が少なかったが、低濃度での作用では細胞内カルシウム濃度の変動を示す細胞数が顕著に増加した。このことは **Shh** シグナル亢進によって神経前駆細胞の分裂は維持されるが、その際にはノンカノニカル経路によってシグナルが伝達されている可能性が示唆された。