

＜特別シンポジウム＞これからの神経学

## 神経研究の今後：分子から病態へ

御子柴克彦

(臨床神経, 48 : 815—820, 2008)

Key words : 分子-細胞-組織-器官-個体-社会, 神経疾患, 精神疾患, ミュータントマウス

脳科学は、人間を理解するための総合科学であるといえる。そして、複雑かつ高度なシステムである脳は、21世紀の自然科学に残された最大の未知領域の一つである。脳は行動から、情動、記憶、学習などの多くの活動を制御する高度な情報処理器官である。

脳を理解する第一歩として何が重要であろうか。

まず、脳というものをあらゆる角度からみる必要がある。現在の生命の階層性を考えると、DNA-RNA-タンパク質-細胞内小器官-細胞-組織-臓器-個体-社会の流れがみられる。脳はこの一連の連鎖の中で臓器に位置する。1個体の中で臓器は夫々の役割を発揮して個体の恒常性の維持をおこなう。脳のユニークな点は、聴覚系、視覚系、嗅覚系、味覚系、更には生体にはりめぐらされた温冷感覚、圧感覚などを介して、生体の恒常性を維持するのみならず、他個体とのコミュニケーションを可能にしたことである。すなわち脳という臓器の出現によってはじめて集団としての統一性がとれるようになったのである。そのため、脳研究のばあいは、多彩な解析手段が要求される。脳研究の切り口を4つの領域に分類するとするならば、以下になるであろう (Fig. 1)。

1) 脳・神経系の構築原理の解明および高次脳機能の発現メカニズムの解明を目指す「脳を知る」領域

2) 脳と心の疾患の病因、病態機序の解明および診断・治療法の開発を目指す「脳を守る」領域

3) 脳の情報処理の計算論的解明および脳の情報処理システムに基づく情報科学の構築を目指す「脳を創る」領域

4) 乳幼児から青年期までの脳発達の解明、成人、高齢者の学習機能の解明を目指す「脳を育む」領域

これらの研究を進めるには高い学際性と国際性を実現するため、分子、システム、行動、情報処理、教育にいたる広いレベルでの研究を総合的に推進する体制を構築し、各々の領域が融合的にかかわる必要がある。

では、脳研究はどのように進めて分子から病態の解析をしたら良いのであろうか。これには各人様々な脳研究のストラテジーがあると考えられる。ここでは筆者がかかわってきた正常と異常の比較解析によるプロジェクト (Fig. 2) を例として上げながら、分子から病態へのアプローチの一断面を紹介してゆく。

### 1) ニューロンの位置決定のメカニズム解明

ことなつた細胞はただ雑然と存在している訳でなく、特定の細胞は特定の脳内部位に位置して、ニューロン間で特定のシナプス形成がおこなわれる (Fig. 3)。脊椎動物の脳における基本的な課題は、脳内で神経細胞の位置がどのようにして決まるかということである。脳内での神経細胞の位置が決まることにより、的確にニューロン相互のシナプス形成がなされる (Fig. 3)。実はニューロンの位置決定と脳の皺形成とはリンクしており、両者を切り離すことはできない。しかも脳の皺が形成できないヒト遺伝性疾患として滑脳症が知られている。そこで、ニューロンの層構造決定機構のメカニズムの解明が必要である。これに解答を与えてくれたのが、元々、ニューロンの位置異常をひきおこし、小脳皮質の皺形成のできない突然変異のリーラーミュータントマウスである (Fig. 4 左図)。リーラーと正常マウスとの人工キメラマウスをわれわれが作製することにより、リーラーフェノタイプがかなり正常化することから、リーラーの異常は分泌性分子によることを知った。そこでリーラーミュータントマウスでは、ニューロンの位置決定にかかわる分泌性分子が欠失しているという仮定をたてた。正常の脳組織をリーラーマウスに免疫して、正常にあるべき、リーラー遺伝子産物に対する抗体の作成というユニークな手法をもちいたところ、見事にリーラーマウスで、リーラー遺伝子産物の抗体 (CR-50) をえることに成功した (Fig. 4 左図)。CR-50抗体により、リーリンが認識され、これまで機能のわかっていなかった大脳表層に局在するカハール・レッチウスニューロンから分泌されることが明らかとなった (Fig. 3)。その後、リーリンシグナルの下流に mDab1 (マウス disabled1) が位置していることを、われわれが発見したヨタリ (Yotari) ミュータントマウスの解析から明らかにした (Fig. 4 右図)。この一連のリーリンシグナル系を始めとして、更に最近では、CdK5 という細胞内タンパク質をリン酸化するリン酸化酵素もニューロンの位置決定にかかわることを明らかにした (Fig. 5)。更に他のグループにより、脳皮質形成機構にかかわる分子がつぎつぎと明らかとなり、相互に関連している情報伝達経路が明らかになりつつある。これらにかかわる分

## 脳科学の展望

## —「人間とはなにか？」人間を理解する総合科学—

- ・研究分野：生物学，情報科学，人間科学の融合
- ・研究のストラテジー：

分子—細胞—回路—臓器—個体(システム)—行動—社会

- ・4研究領域：脳を知る，脳を守る，脳を創る，脳を育む

Fig. 1 脳科学研究のストラテジーと展望

子はひとたび異常がおきると，ヒトの滑脳症をおこし，重篤なてんかん発作や精神遅滞などの脳・精神神経疾患のもとになることも明らかになってきた。

## 2) 発生分化のメカニズムの解明

ここでは Zic を例として解析した例を紹介する。

Zic はマウス小脳顆粒細胞に強く局限して発現する分子として，私たちが最初にみいだして構造を決めた zinc finger motif をもつ転写因子である (zinc finger の zi と，小脳 cerebellum の c をとり Zic と命名した)。

### Zic 欠損にともなう脳の形態形成異常

私たちは Zic ファミリーの小脳発生における役割を明らかにするために，まず小脳においてもっとも mRNA 含量が高い Zic 1 から各々に変異をもつマウスを遺伝子相同組換えにより作製し，その表現型を解析した (Fig. 6)。

### 小脳のパターン形成にかかわる Zic 1 :

Zic 欠損マウスは生後 2, 3 日目以降，顕著な運動失調，異常運動などの症状を示し，多くのものは生後 1 カ月以内に死亡した。中枢神経系では，小脳の低形成，小脳小葉パターンの異常がみとめられた。組織学的な解析から，小脳の異常には胎生 14 日以降の，菱脳唇で顆粒細胞へと運命決定されたのちの顆粒細胞の前駆細胞の増殖能の低下にかかわっていることが明らかとなった。

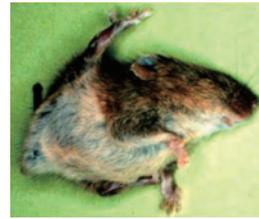
### 中枢神経系全体の発生を制御する Zic 2 :

Zic 2 は，ヒトの 13q 症候群のポジショナルクローニングによりヒトの 13 番染色体の一部分が欠損した変異がみつきり，その中に Zic 2 がふくまれていた。13q 症候群は無脳症，脳の発達不全，脳ヘルニアなど重篤な脳発生障害をひきおこすことが知られていた。Zic 2 のほかに多くの遺伝子も欠失していたために Zic 2 が原因であるか否かは不明であったが，Zic 2 の欠損マウスを作製したところ同様の異常所見をみいだし，これにより 13q 症候群の原因遺伝子は Zic 2 が関与していることが示された。Zic 2 の遺伝子欠損マウスをしらべたところ，網膜の神経節細胞からの線維のうち ipsilateral projection にかかわる線維の異常があった。これにより今まで，立体視異常を分子レベルで手掛けれなかったが，分子メカニズムの解明に大きなはずみとなった。

### 左右軸を決定する Zic 3 :

内臓の位置は左右非対称であるが，内臓の異常として完全

- ・Normal 正常 — Abnormal 異常
- ・Health 健康 — Disease 病気



小脳失調ミュータントマウス  
分子異常—形態異常—機能異常の  
関連付けが可能

Fig. 2 正常と異常との比較解析

逆位 (situs inversus)，位置異常 (situs ambiguus) が知られている。X 染色体にリンクした Zic 3 の遺伝子に変異がおきている内臓の位置異常をおこした患者が知られている。アフリカツメガエルをモデル動物として Zic の役割をしらべると Zic 3 はアクチビンの下流にあり，左側に発現しているが，右側に Zic 3 を発現させると，心臓や内臓，とくに小腸のルーピングが正常と逆になることがわかり，Zic 3 が左右の決定に大きくかかわっていることが明らかとなった。自然発症の Zic 3 欠損のミュータントマウスもみつきり，「左右」の問題解析の手がかりにもなりつつある。

## 3) 神経回路網メカニズムの解明

ニューロン回路網の決定にかかわる分子基盤の解明が求められる。神経回路網の形成はシナプスという構造を介しておこなわれるが，そこではいくつかの複雑な機構が組み合わさっている。まず，ニューロンの突起がどのようにして伸展するかである。次に伸展した先端である神経成長円錐が標的としてのニューロンをどのようにして認識するかである。神経突起伸展を制御する親和性分子と反発性分子がみつきり明らかになり，それぞれの分子の受容体もみいだされてきた。これらの分子の相互作用により，個々のシナプスの特異的形成とその安定化がおこなわれる。結果として特異的ニューロン回路網が形成されると考えられている。細胞認識・接着分子はみつきりみいだされており，脳神経系の各部位における特異的ニューロン回路網の形成のメカニズムが解明されつつある (Fig. 7)。そして，感覚情報の入力，伝導，統合，記憶，運動，情動，意識，更には，こころの働きにも深いかわりがあり，その分子基盤を作っていることも明らかになりつつある。

## 4) シナプス可塑性の分子基盤の解明

シナプス可塑性の研究は有名な Hubel と Wiesel による実験，すなわち，子ネコの片目を一定期間閉じることにより，投射を受けた大脳皮質ニューロンはその遮蔽した目に反応しなくなることをみいだした。この研究はある一定時期 (臨界期) にみられるので，発達脳の可塑性の例となっている。分子レベルでの脳の可塑性，すなわち，シナプス可塑性の研究が大いに

6層構造は神経細胞の移動と配置のメカニズムによりできる

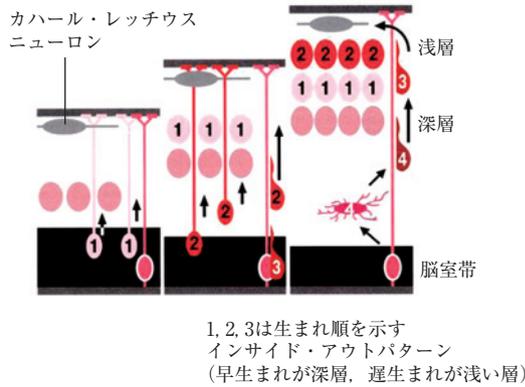


Fig. 3 大脳皮質の6層構造の形成メカニズム

進んだ。電気生理学的手法をもちいることにより、長期増強や長期抑圧の現象がみいだされるとともに、その分子的基盤を作り出している分子の研究も大きく進んだ。海馬や、小脳を中心とした特定の部位に局在し、特定のニューロン回路網を形成したシナプス部位およびニューロン内でのような情報処理がおこなわれるかを知る必要がある。これまでにNMDAレセプター、AMPAレセプター、IP<sub>3</sub>レセプターなどのチャネルや、カルモジュリン、カルモジュリンキナーゼなどが深くかわっていることが明らかとなっている。細胞内に伝えられた二次メッセンジャーを介した細胞内の情報伝達分子群を介してニューロンの生理機能をひきおこすメカニズム解明は大変に奥深い。脳の各部位での各シナプスでの情報処理機構は、ことなっているはずであり、更にメカニズムの解明に力を入れて行く事により微妙な調節機構も明らかになってくると思われる。特異な回路網での機能解析とその分子基盤の解析が高次機能を理解する上で重要である (たとえばFig.7)。

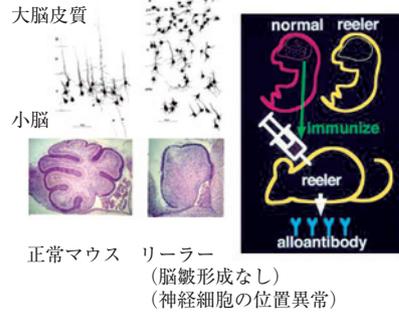
今後は、糖、脂質の研究もこれまでにない新しい概念を導き出す可能性が非常に高く、力を入れる必要がある。

個体での認知、記憶、学習、情動、意識などの複雑な高次の問題を、脳内の各神経回路内でおきるダイナミックな分子の動態や、ニューロンとグリア細胞間の連絡をおこなう情報分子の時間、空間的な解析とその理解が必要となる。

### 5) ゲノム科学と脳科学研究

最近のゲノムの解析が進み、生命の設計図であるゲノムの全塩基配列が、各生物種でつぎつぎと明らかにされてきている。脳の高次機能や情動やこころの問題をコントロールしている分子基盤もゲノムに暗号として記されていると考えられる。脳の構造・機能の研究は、ゲノム生物学と密接にリンクする必要がある。最近のゲノム解読により、ヒトゲノムはチンパンジーと98%以上、アカゲザルとは93.5%の高い配列の相同性を示す。ヒトとサル、チンパンジーでは、言語、認識、思考、記憶、学習において脳の高次機能に関して大きな違いがある。またヒトでは脳を構成する神経細胞の数が圧倒的に増え

脳の皺が無く、神経細胞の位置が異常のマウスの解析



リーラーマウスに正常マウス脳を免疫して遺伝子産物(リーリン)に対する抗体を作成し遺伝子を同定して、分子生物学的研究の突破口となった (Neuron 1995)

ヨタリ (Yotari) ミュータントマウスの発見・命名 (Nature 389 730-733 1997)

- 1) 脳の皺形成なし
- 2) リーリンの下流
- 3) disabled-1 (Src, Abl and Fyn)チロシンキナーゼのアダプター蛋白質の変異

Fig. 4 脳のしわ形成とニューロンの位置決定に関わる分子の発見につながったリーラーマウスとヨタリマウス

### リン酸化酵素Cdk 5は多くの脳内基質をリン酸化し、様々な神経機能に關与する

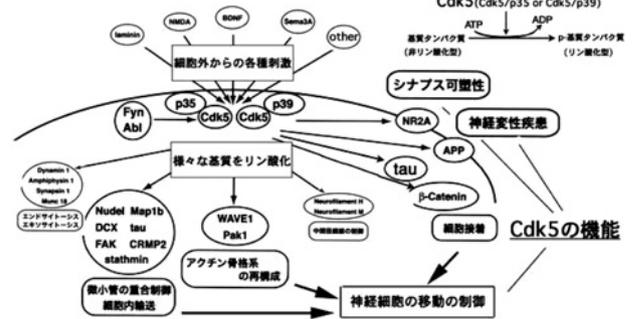


Fig. 5 リン酸化酵素であるCdk 5の多様な機能

ている。ここで注目しなければならないのは、1個の細胞での遺伝子の数が、ヒトを頂点としてほぼ飽和していることである (Table 1)。ヒトとチンパンジーでもそれ程の遺伝子数の違いはない。何が違うかというとなんてニューロンの数が圧倒的にヒトでは増えていることである。神経細胞数が限定されている時は、シナプスをつくる標的となるニューロンは少ないため、シナプス連絡の自由度があまりない。細胞数が増える事により、多数の多様なシナプス形成の可能性ができ、最終的には、ニューロン相互の連絡が1:1となる際、どの線維とシナプスを形成するかは、環境因子にしたがうことになる。この点で、ヒト脳は遺伝的制約からのがれることができたのであろう。

### 6) 分子、細胞そのものの基礎的な解析から精神神経疾患へ

これまでは、認知、認識、記憶、学習、さらには心のような統合的な処理をおこなう高次機能を持つ臓器である脳の働きの解明は発生・分化研究や、分子・細胞の研究の主力である

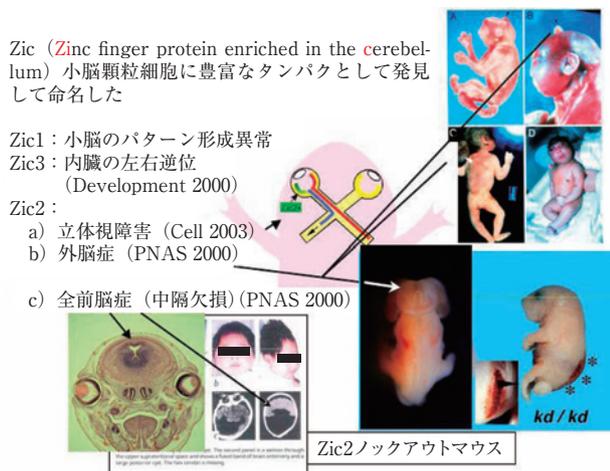


Fig. 6 発生発達に重要な Zic の欠損に伴う脳の構造と機能の障害

分析的な解析ではできないのではないかと考えられていた。すなわち、脳の還元論的な分析では脳の本当の意味の理解はできないのではないかと批判もあった。しかし、これまでの多くの発生分化研究、分子、細胞の研究の結果発見されてその機能が明らかになってきた多くの分子が、高次機能の発現の理解に必須であり、しかもほとんどが精神・神経疾患の原因遺伝子であることが明らかになってきた。またいろいろなチャネルの異常によるチャネルopathyともいう疾患が、神経疾患のみならず、精神病に直接かかわっている事実がつつぎに明らかになりつつある。

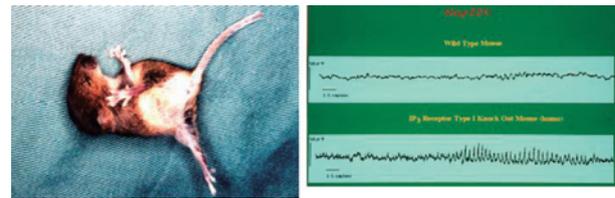
このことはとりも直さず、分子・細胞のレベルから眺めていると、従来の学問領域として確立しているようにみえた神経内科学を中心とした病態と精神科領域で扱ういわゆる心の病は、同じ範疇にくくられる様である。今後は、両者は情報交換を密にして協調体制をとることにより、なかなかとりつきにくかった心の問題も新たな解析のきっかけがつかめるのではないかと考えている。

われわれは、様々な遺伝要因をもった精神・神経疾患にわずらわされている。単一遺伝子によるものは因果関係がはっきりしているが、多因子によるものは、環境因子と遺伝子とのかわりがあり発症状況もその症状の重症度も大きくことなっている。すなわち、脳と環境のかかわりを意識した分子レベルでの解析も必要となってくる。

## 7) 脳研究の中の各分野間および他分野間との融合研究の必要性

脳研究とは大変幅の広い領域である。今後、「脳科学」は遺伝学、分子生物学、細胞生物学、物理、化学、生物物理などの研究まで包含しうる学問大系になると考えている。物理的、化学的、生物物理的、数学的、統計的なのもの見方しておく事が重要である。細胞の挙動や、組織の動態はよく観察していると、いい加減なようにみえるが、じつは、統計学的にみると、

IP<sub>3</sub>レセプターの遺伝子欠損マウスは「てんかんと小脳失調」をおこす。(Nature 379, 168-171, 1996) てんかん発作はベンゾジアゼピンで消失する。



IP<sub>3</sub>レセプターの神経可塑性への役割

小脳切片：長期抑圧 (LTD) が消失 (J.Neurosci. 18, 5366-5373, 1998)  
海馬 (CA1) 切片：長期増強 (LTP) が増強。

(Learning & Memory 7, 312-320, 2000)

シナプスの特異性に関与する。(Nature 408, 584-588, 2000)

スパイン中のシナプス機能の強化に関わるIP<sub>3</sub>受容体とその機能を知るには Knock-Outマウスでの解析が欠かせない。

Fig. 7 IP<sub>3</sub>レセプター欠損に伴う行動異常と脳の可塑性の障害

ある法則にのっとり、動いている事が多い。分子のレベル、細胞レベル、更には個体レベルでその機能が振動していることが、多く報告されている。細胞内で外部からの刺激によりひきおこされるカルシウムの振動もその一つであろう。この振動という現象がこれまでの物理法則で説明可能なのかなど極限まで、研究を進めていく事により、研究のブレイクスルーがあるものと考えている。

ニューロン、グリア細胞の研究とがん細胞の研究はまったく同じ技術をもちいて解析ができる。がん研究をしている研究者に「こころ」とはなどの課題を出して、研究をすると、脳に集中している研究者よりもユニークな発想を出すかもしれない。物理学を専攻している研究者からは更に興味深い答がでてくるかもしれない。

またアルツハイマー病のアミロイドタンパク質の凝集は、生化学や構造生物学を専門とする研究者との、共同研究体制の確立が是非とも必要となる。脳科学の裾野を広げる必要性を強調したい。また、ある病気の原因となったりするタンパク質の解析を地道にしていると、意外とそこでみいだした原理が思いもよらない病気の原因解明につながることもある。その意味で地道な分子、細胞、組織の研究は非常に重要である。ただし、常に高次脳機能とのタイアップを意識しながら解析することが必要であろう。

機能分子の構造生物学的な解析は、分子の働くメカニズム解明に多くの情報を与えてくれる。構造生物学的解析の結果と有機合成とを組み合わせる事により、その分子の構造と機能とカップルする分子を化学合成できて、創薬の方向への道も早く進むと考えられる。

## 8) 新しい技術の導入と革新的な技術開発

発見は必ず、その背景に新しい技術開発に基づくことが多いことを忘れてはならない。新しい技術の導入や新しい技術の開発は、これからの脳科学を切り開くためには、是非必要で

Table 1 遺伝子数とニューロン数の比較

生物種	遺伝子の数	ニューロンの数
線虫	20,069	302
ショウジョウバエ	14,039	25 万
マウス	24,118	脳：7,098 万 (大脳皮質：1,369 万)
アカゲザル	21,070	脳： 63 億 (大脳皮質： 17 億)
チンパンジー	20,333	
ヒト	22,680	脳：1,000 億 (大脳皮質： 140 億)

全遺伝子の数は、Ensembl データベース (www.ensembl.org/index.html) に登録されている既知遺伝子と新規遺伝子の合計数 (2007 年 8 月現在)。

ある。研究は従来とはことなる手法でおこなうと、意外に予想もしなかった結果をえることがある。予想された結果とことなるデータが出たときが大きな発見のきっかけになることを、常に心しておかなければならない。とくに未知の世界である脳科学を切り開いていく時は尚更である。

以上、いくつかのことを述べてきたが、脳研究は認識、学習、行動、情動、更にはこころの問題まで扱う広い学問である。しかし、これらの高次といわれる機能も基本的には分子、細胞の働きによりひきおこされている。脳の分子・細胞・組織の研究は、脳研究の根幹をなすものであり非常に重要である。

脳の発生・分化・発達研究と正常と病態との比較解析により、多くの情報がえられるようになってきた。

脳の構造は一見複雑に見えるが単純ともいえるいくつかのステップのくりかえしと組み合わせにより現在のヒトの脳の構造がつくりあげられている。実はその構造は、脳の複雑な機能を生み出すために大変に好都合につくられている。脳内はグリア細胞と神経細胞の集団から成り立っているが、脳内の神経細胞相互の連絡がどのように働いているかを知らなければならぬ。しかし、これはまさに生理学が基盤にあるものでその研究に電気生理学が中心的な役割を果たして来たが、これに分子生物学が導入されることにより、その理解が飛躍的に進んだ。更に最近、神経の回路の形成や安定化は決して固定されたものでなく、人間の発達依存的(臨界期の存在)かつ活動依存的に変わりうるということが、明確に示されてきた。

記憶学習などにおける神経回路網の形成機構などの知見を基に、実験と理論の相補的効果をえて、心的情報処理の回路的メカニズムの解明も必要となろう。その過程で遺伝子から機能研究へ効果的に展開する必要がある。分子から行動にいたる多重階層システムとして脳は考えられがちであるが、実は非常に緊密に相互のステップはリンクしており、発生・分化研究がその細かい機構をうめるのに重要な意味をもっている。

る。

神経学は神経疾患をその対象としながらも正常機能の解析を進めてきた。脳の病の原因のかなりの部分が遺伝子、タンパク質の異常によることも明らかとなってきた。しかし、一面神経疾患が多因子の異常によりひきおこされてきたことも事実である。そうするとまさに発生生物学、分子生物学、病理学、画像解析技術、実験動物学、神経生理学など様々な手法をもちいて、神経変性疾患・神経疾患の原因や治療原理を確立することが必要となり、脳というものの全体像をとらえてゆくことが必要となる。

とくに長寿社会となるにしたがって脳の老化の問題が大きく社会問題にもなっている。しかし、驚いたことに、発生・発達でかかわっていた分子が、脳の老化に深くかかわっていることが明らかとなってきた。

更に神経疾患も現在大きな社会問題となっているが、精神疾患をひきおこす遺伝子も現在では、家系の解析や、発生・発達にかかわる遺伝子の欠損マウスの作製とその行動や情報解析をすることにより、患者さんの同意をえて、遺伝子解析をすることにより、病氣と遺伝子がまさにリンクしているということも明らかとなってきた。

このように神経学は、多くの技術・手法、更には実験動物を導入することにより、分子から病態への流れが大きくつながり、今では心、知性、更には神経回路レベルで、人間理解のための総合科学として大きく進展している。

## 文 献

- 1) 御子柴克彦：ニューロンの発生と形態形成。脳・神経の科学 I。久脳 宗、三品昌義 編。岩波講座 現代医学の基礎 6 岩波書店、1998, pp 61-87
- 2) 御子柴克彦：3. 脳・神経研究の現場。科学/技術のニュー・フロンティア (2)。岩波講座 科学/技術と人間 5 巻、岩波書店、1999, pp 69-94
- 3) 御子柴克彦、清水孝雄 編：脳の発生・分化・可塑性 (シリーズ バイオサイエンスの新世紀。日本生化学会 編) 第 11 巻、共立出版、2002a
- 4) 御子柴克彦、清水孝雄 編：感覚器官と脳内情報処理 (シリーズ バイオサイエンスの新世紀。日本生化学会 編) 第 12 巻、共立出版、2002b
- 5) 立花 隆：脳を究める—脳研究の最前線、朝日新聞社、1996
- 6) 古市貞一 編：分子・細胞・シナプスからみる脳、シリーズ 脳科学 5、東大出版会、2008

**Abstract****Toward a future Research in Neurology: molecular analysis of brain disorder**

Katsuhiko Mikoshiba, M.D., Ph.D.

Lab. for Developmental Neurobiology Neuro-Developmental Disorder Research Group, RIKEN Brain Science Institute

Brain is highly organized organ important for learning and memory, emotion and behavior in social life. We are confronted to suffering from various brain disorders. I here present some of the research strategy for the analysis of brain disorder by molecular technique to find ways to cure the disorders. It is surprising to know that the important molecules involved in development and differentiation of the brain are all involved in the neurodegenerative disorder or neuropsychiatric disorders. I here stress the importance of the collaborative approach with other fields to analyze the brain structure and function at various levels at molecule-cell-tissue-organ-body-society.

(Clin Neurol, 48: 815—820, 2008)

**Key words:** molecule-cell-tissue-organ-body-society, neurological disease, psychiatric disease, mutant mice

---