

脳と神経の働きに挑む

東京大学医科学研究所教授
理化学研究所脳科学総合研究センター
発生・分化研究グループディレクター 御子柴 克彦



脳の研究が始まったのは比較的最近で、はじめは臨床医学のなかでも主に精神科、あるいは文学部の心理学の領域で扱われていました。現在では、脳研究は生命科学のうちで最も重要な領域となっています。また、脳の研究はまさに物理、化学と完全につながっているのですが、歴史的にみると現在の脳の研究に至るには長い道のりがありました。

タバコモザイクウイルスの結晶化による生物学と物理学のかけ橋

脳の研究は、広くは生物学に分類されます。すべての脳の働きは物質の働きによってひきおこされることは知られており、物理、化学の知識が脳をより良く理解するのに大切なことはわかっています。しかし以前は、生物と物理・化学の世界は全く別のものと考えられていました。つまり、図1に物質、エネルギーと書いてありますが、この物理学の世界と生命科学の世界は、これまで全く離れた独立の現象であると考えられていました。

さて、タバコモザイクウイルスというウイルスのことをご存じだと思います。それが感染するとタバコの葉が枯れてしまいますが、実はスタンレイによってタバコモザイクウイルスが結晶化されました。結晶化されても、その結晶を塗り付けると、枯れてしまいます。いままでは結晶化された物質は生命ではないという考え方でしたが、結晶化されたもの自身が生命であったということが初めてわかりました。これにより初めて物理現象と生命現象にかけ橋が作られました。これを契機に物

理の人たち、特にその中でも古典的な物理学ではなくて、量子力学などをやっていた先端的な物理学の人たちがどっと生命現象の解明に流れ込んで、新しい生物学を作り上げてきました。

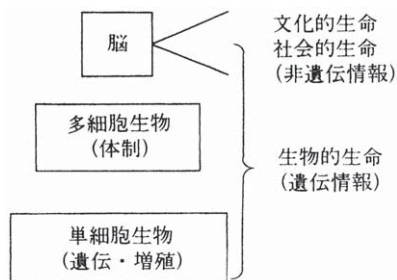


図1 生命現象の階層性

[渡辺 格, NHK市民大生命科学の世界, 7-9月期, p.9, 日本放送協会(1986)]

単細胞－多細胞－脳への道

生命現象の研究は、最初はより簡単な単細胞の生物であるバクテリオファージなどを使って研究が進められてきました。主に単細胞の遺伝、増殖という研究が最初になされました。私たちはたくさんの細胞からなっているので多細胞生物に入りますが、最初のころは単細胞生物と多細胞生物の間には非常に大きなギャップがあるのではないかと考えられていました。しかし、その後いろいろな解析の結果、単細胞生物と多細胞生物との間に特別な差がないことがわかりました。

文化的生命、あるいは社会的生命、非遺伝

的情報処理装置とも考えられていた脳も、今では他の臓器と同様に、多細胞からなる臓器であることがわかりました。今ではある分子をいろいろ操作することによって、実は脳の機能まで変え得ることが可能な時代になっているのです。

脳のつくられ方

新しい学問領域、あるいはものの考え方、新しいブレークスルーは、常に境界領域からできあがってきており、生命科学に物理学の人が貢献したように、脳の生物学的側面の理解のためには、もともと脳の研究をしていなかった人たちの貢献が大きいのです。

さて、これから脳の話に入っていきます。私たちの脳は、右と左の左右半球からなっています。そして左右の半球は、脳梁という部分を介してつながっています。また、たくさんしわがあります。

私たちの脳は一見非常に複雑で、この脳をどうアタックしていったらいいかわからなくなるくらいです。しかし発生過程を見ると、意外とどのように解析したらよいかその切り口が見えてきます。

私たちの神経系は、外胚葉からできあがっています（図2）。外胚葉のそれぞれ一層の細胞からなる一部分が、ある神経化する情報によって神経板という形にだんだん分化してきます。これはもともととは均一な細胞ですが、次第に形の変化を起こし、神経板の両端が隆起してその細胞同士の接着が起きて、神経管がつくられます。一層の細胞からなる神経管が、私たちの大脳、小脳、脊髄を含むいわゆる中枢神経系のもとになります。

神経管がつくられるときに、その周辺に集まるいくつかの細胞を神経堤細胞といい、将来の私たちの末梢神経系のもとになります。ですから中枢神経系になるか末梢神経系になるかは、形態形成の過程で神経管の細胞に入り込むか、神経堤細胞になるかで決まります。

神経管は、だんだん発生が進んでくると、特定の部位の細胞の数が増えて、大きくなっ

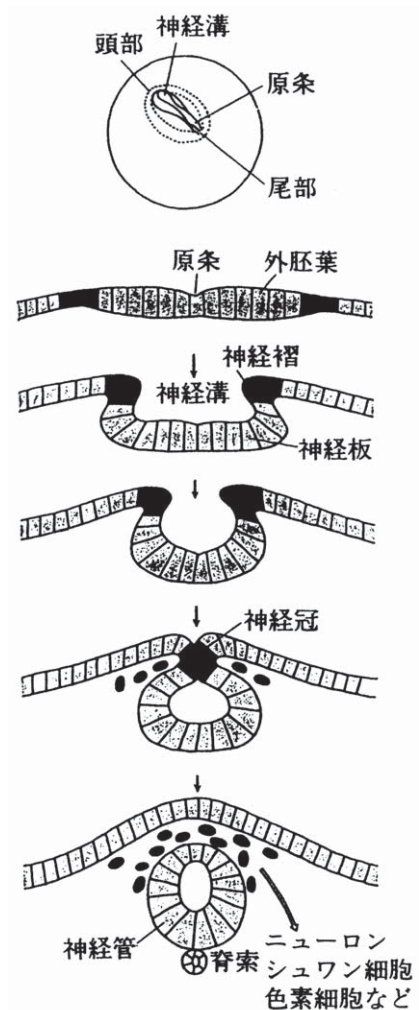
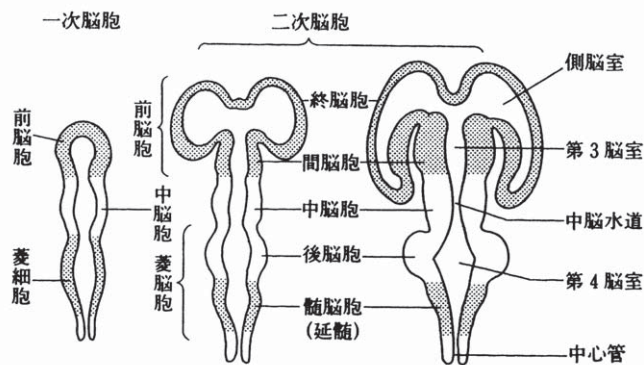


図2 脳の発生

[御子柴克彦, 岩波講座分子生物学, 神経系の形成と統合, p.5, 岩波書店(1991)]

てきます（図3）。特に終脳といわれる部分は拡張し、互いに折れ曲がりながら「しわ」をつくります。細胞の数が增多ることによってしわがどんどん増えます。一方、神経管全体としては屈曲しながら非常に狭い頭蓋の中に折りたたまれて入ります。細胞が分裂する場所と時期は、非常に厳密に遺伝子の支配に則ってできています。神経管の中央は、中空の部分となっていました、大人になっても脳の中に残っています。それは脳室という形で私たちの脳に残っており、中には脳脊髄液が入っています。

A. 脳管における脳胞の分化 (GARDNER 改変)



B. ヒトの胎児脳における屈曲を示す (AREY による)

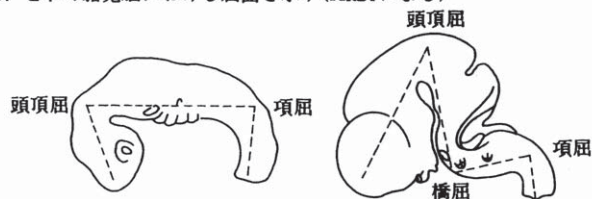


図3 ヒト脳の形成過程における脳胞分化と屈曲

大脳皮質といわれている場所は、特に大きくなっていくのが私たち人間の大きな特徴で、あとで触れるように大脳が大きくなったことが、われわれが地球上にいる、人間たる所以です。実は、大きくなったことが遺伝子の支配から逃れるための非常に大きなステップであったことは、最後にお話しします。

遺伝的に支配される脳の形づくり

まず最初に、私たちの脳がいかに遺伝的に支配されているか、遺伝子によってコントロールされているかということを紹介しておきたいと思います。

脳の中を見ると、主に2種類の細胞からなっています。ニューロンとグリア細胞です。ニューロン（神経細胞）は突起を伸ばして、別のニューロンとシナプスという連絡場所を作って情報をさらに伝えていきます。ですからこれをニューロン・ネットワークあるいは神経回路といっています。

グリア細胞はニューロンの間をうずめています（図4）。グリア細胞には、アストロサイト、オリゴデンドロサイト、ミクログリア

に分類されます。アストロサイトは、神経細胞に栄養を与えるために非常に重要な役割をしています。オリゴデンドロサイトは、非常に効率よく情報を伝えるために、髄鞘という絶縁体としての膜をニューロンの軸索に巻きます。これによって、隣の線維に情報が漏電しないようにする非常に重要な意味を持っています。ミクログリアは、脳の中の老廃物あるいは壊れたものを食べて処理する、非常に重要な食細胞的な役割をする細胞です。

神経細胞が殿様だとすると、こういうものは家臣団です。殿様だけでは世の中は動かないので、この家臣団がものすごく重

要だということが、最近の神経科学の研究によってわかってきました。

脳はもともと共通の細胞からつくりあげられる

いま神経細胞という話をしましたが、神経細胞にしてもグリア細胞にしても、すべて共

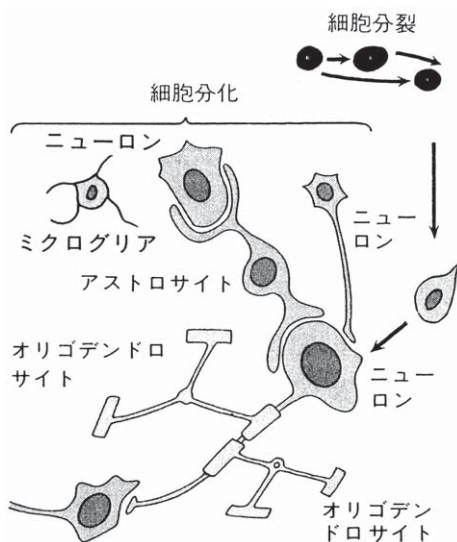


図4 神経組織におけるおのおのの構成細胞の相関

通の細胞からできます。最近明らかになってきたのは、大人の脳の中には、もう一度新しく脳を作る細胞が入っているということです。いままでそういうコンセプトはなかったのですが、最近のバイオサイエンスの進歩により、老化した脳の中にも、もう一度脳を作り始めてすべての細胞を作るもとの細胞があることがわかってきました。

実は、最初の細胞はすべて共通の形をしています。どういうメカニズムでこういう特別な形をするかということについて、少し触れたいと思います。

神経細胞あるいはニューロンというと、非常に崇高なイメージがあります。図5のように非常に細かい突起を出して、特に樹状突起は外の細胞からどんどん情報を集めます。たとえばプルキンエ細胞は、ほかの細胞から2～10万の入力を受けます。出てくるアウトプットは0か1です。コンピュータの基本的原理は、実は神経をモデルにしてできています。2万以上の情報が入っても、出てくる情報は0か1で、ここでそういう情報処理をして伝えていくのです。

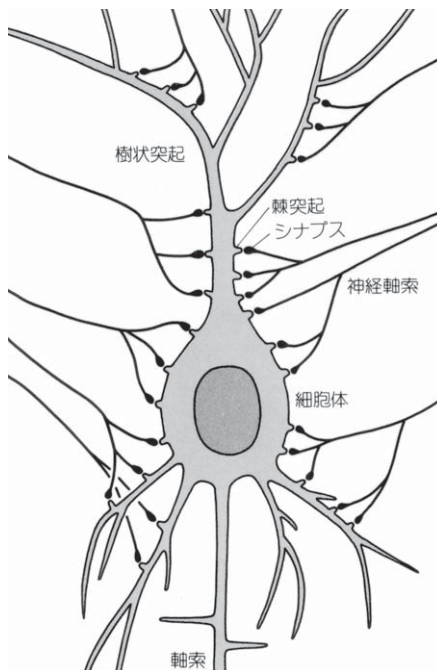


図5

細胞の中は複雑な材料生産工場

それぞれの細胞の形づくりは、DNAがRNAに読まれて、さらにそれがタンパク質に翻訳されたいろいろな材料により作られます。材料がある場合には形をいろいろ変化させるのみならず、機能分子として働きに役に立ちます。

たとえば、骨格系のタンパクがどんどんできると突起がどんどん伸びていきますし、筋肉系のものの場合には、アクチンとミオシンというある特定のタンパクがどんどん発達することによって、筋肉の収縮という現象がおきます。ですから、基本的にはすべての細胞は同じ遺伝子を持っていることをまず頭に入れていただきたいと思います。そうすると何が大事かというと、どの遺伝子が読まれていくかということです。

私たちの細胞内の遺伝情報の蓄積の場所は核で、ここにDNAが蓄積されています。ミトコンドリアはエネルギー生産工場、ゴルジ装置は分泌物質生産工場、粗面小胞体はタンパク質合成工場です。私たちの体を構成する細胞は、どの臓器であっても基本的にこれらの成分から成り立っています。

筋肉の細胞も皮膚の細胞も、あるいは神経細胞も、実は同じ遺伝情報からある部分だけが強調されて、各々の細胞に特異的な形や働きの変化ができたと考えていただければ、非常に統合的な形でものを理解できます。

内分泌器官としての脳

さて、内分泌系と神経系は全く独立の調節系だと考えられてきましたが、最近のバイオサイエンス、特にニューロサイエンス（神経科学）の進歩で、脳は神経系そのものの神経回路網形成という役割と同時に、実は内分泌器官であることがわかってきました。

サイトカインのサイトは細胞ということです。カインは活性化するという意味をもっています。つまりサイトカインは、細胞を活性化する物質です。つまりホルモンは、分泌されて別の細胞に働くサイトカインですが、

GM-CSF、IL-1などが知られています。以前は、これらの分子は血液を介して末梢の組織から脳の中に入ったと考えられていました。しかし、免疫系あるいは血球の分化に使われているこれらの分子は神経細胞、グリア細胞など、脳の細胞が全部自分たちで作っていることがわかってきました。

つまり、お互いに色々な物質を分泌し合って、色々調整して発達していくには、免疫系などで使っていた同じ分子を脳の中で独立に作って働いていることがわかりました。脳は線維連絡を形成して回路網を作るというのが従来の神経科学の考え方ですが、このようにして、内分泌器官としての脳という新しいコンセプトが確立されてきたのです。

分子生物学が与えた思想的影響

先ほどDNAと申し上げましたが、DNAは四つの塩基のうちの、三つの塩基の組み合わせによって、一つのアミノ酸が決定されます。

分子生物学の非常に大きな成果は、生命現象の分子メカニズムがわかったことだけではありません。地球上にいる多様な生物種の基本的生命原理は全く同じであることが、分子生物学の思想的に、非常に重要な意義です。地球上における最高の存在は人間であると考えていたのに、それが崩れたのです。地球上の生物は、同じ遺伝情報を使っているということがわかってきたのです。

ヒト、マウス、ラット、アフリカツメガエル、ゼブラフィッシュ、メダカ、ショウジョウバエ、イカ、酵母、大腸菌。「同じ遺伝情報を使っている」ということで「これらは地球上で完全に等価のものである」ことになりました。

そういう考え方で、もう一度私たちの行動、形づくり、脳の形の変化、機能を見ていきたいと思います。

遺伝的に制御されているかたちと行動

図6はショウジョウバエです。正常のハエでは1対しかありません。一つの遺伝子の変異によって節の数が増えたり、節の数が足りなくなったハエが見つかっています。節の数が増えて胸が二つになったバイソラックス（英語で胸が二つという意味）やフシタラズ（日本人の命名で節の数が減ったもの）などが突然変異体（ミュータント）として報告されています。日本人の命名になる突然変異の動物が、いまどんどん見つかっています。たとえば光を当てるとバタバタするので、ヒカルゲンキという変異をおこしたハエもいます。（笑）



図6 ショウジョウバエのバイソラックス (Bithorax) 変異

Bithoraxとは胸が二つあるという意味。胸部をつくる節が増えたために羽が二対になっている。

あとでご紹介しますが、私たちはヨタヨタしているのでヨタリという名前をつけたネズミを、この間『ネイチャー』に発表しました。ショウジョウバエは複眼です。複眼の前方にアンテナがあります。アンテナの代わりに間違えて足ができてきた、アンテナペディアという一つの遺伝子異常によってできた変異体もあります（図7）。



図7 ショウジョウバエのアンテナペディア (antennapedia) 変異
アンテナ(触覚)の代りに脚ができてしまった変異。

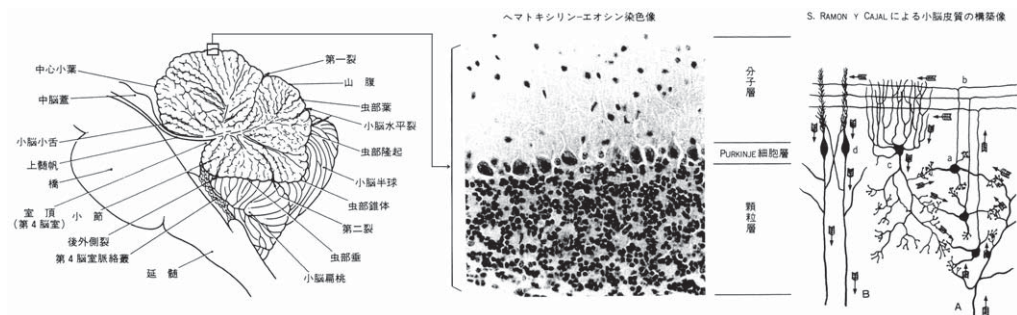


図8 小脳の組織像とCAJALによる小脳皮質の構築像

顆粒細胞(a)、GOLGI細胞(c)、PURKINJE細胞(d)の相互の連絡状態を示している。bは顆粒細胞の軸索である平行線維、Aは苔状線維、BはPURKINJE細胞の軸索。[CAJAL, S. R. y: “Histologie du Systeme Nerveux” 2巻, 1972, p.149より]

私たちの体を見ると、体があって、腕があって、手があります。これは当たり前だと考えていますが、実は非常に複雑な遺伝子のカスケード反応によって、初めてこの形ができます。たとえば、サリドマイドである過程を遮断してしまうと、腕がなくなり肩からすぐに手になってしまいます。このショウジョウバエの場合にはアンテナの代わりに足ができてしまう。これも一つの遺伝子の異常です。この動物に正常の遺伝子を入れてやると、回復します。つまり、私たちの体の形づくりは遺伝子によってコントロールされているのです。

ショウジョウバエの世界の話は、私たち人間には関係ないだろうと思いがちでしょうが、実際に同じようなネズミがいます。しかも、これらの遺伝子は私たちの体の中に入っています。ネズミでこれらの遺伝子を壊すと、脳の奇形が起きて、生きていられない状況になります。すなわちたいへん大事な遺伝子であるということです。

異常から正常をみることにより本質がみえる

ネズミにも同じような異常の動物がいます。病気ということから異常と正常、特にこの異常のネズミを徹底的に解析することにより、しかも正常と比較解析することによって、何が異常であるか、逆に言うならば何が正常発生に大切かということがわかります。ある分子が抜けていてある形の異常が起きるとする

ならば、その分子は形の異常を起こさせないようにする大切な分子であろうということが考えられます。

運動制御系としての小脳

まず小脳に絞って話をしていきます。小脳は非常にきれいなしわを作っています。しかも神経細胞が非常にきれいに並んでいます。それを模式的に示したのが図8です。主な細胞はプルキンエ細胞という神経細胞で、一列にきれいに並んでいます。この内側に無数の顆粒細胞があって、プルキンエ細胞とシナプスを作っています。

遺伝子の異常により小脳に著明な変化ができます(図9)。あるものは顆粒細胞だけがなくなり、また別の変異では、プルキンエ細胞だけがなくなります。またあるものは、プルキンエ細胞の樹状突起の形成が悪く、その上に形成されるべきシナプスの形成のある棘突起(きょく突起、スパインともいう)がありません。小脳は運動制御系ですから、これらの変異の結果、典型的な運動失調がおきます。

では、正常のものと異常のものとに分子的な違いがないか、もしあるとすれば、それが細胞の変性などを含む異常な変化と何らかの関係があり、しかも、小脳性運動失調のおきる原因の解明につながると考えられます。

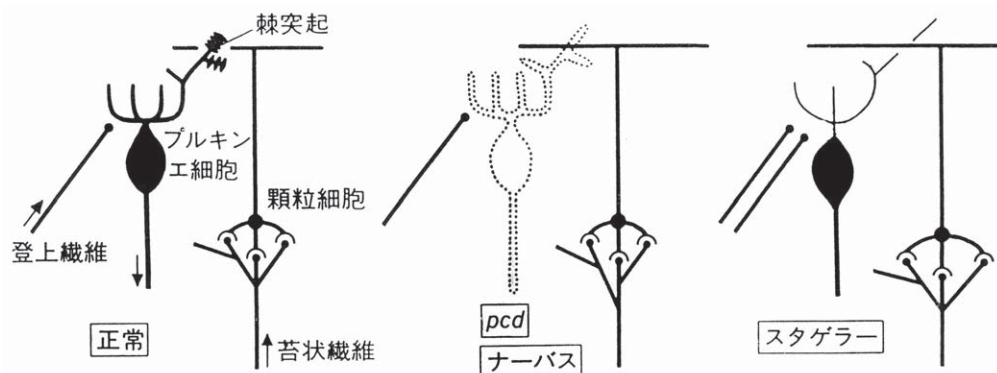


図9 小脳の神経回路網の模式図とプルキンエ細胞に変異をおこすプルキンエ細胞欠損マウスとスタゲラーマウスの回路網

これらのミュータントマウスの小脳では、プルキンエ細胞に豊富なP400タンパク質が激減していた。P400は細胞内のカルシウム(Ca^{2+})の袋から Ca^{2+} を放出する Ca^{2+} チャネルであった。

小脳プルキンエ細胞欠損ミュータントで抜けていたP400蛋白質がIP3依存性カルシウムチャネルであることの発見

プルキンエ細胞のない小脳の蛋白質のパターンをSDS-ポリアクリルアミド電気泳動法という生化学的な手法で調べるとプルキンエ細胞のないミュータントの小脳では、膜分画に抜けている蛋白質のバンド(P400蛋白質)がありました。この蛋白質の正体がわからず、15年間これに執着してきましたが、実はこれがたいへん大事な分子であったことがわかりました。

正体をあかす前に、まずカルシウムの話を少しします。

メカニズムの分子の実体は全く知られておりませんでした。IP3はどのようにして認識されるのか、またそれがどのようにしてカルシウム放出を起こすのかは依然として不明でした。私たちは、P400蛋白質がIP3レセプター(IP3依存性カルシウムチャネル)であることを発見したのです。この分子が働かないと、外からいくら刺激が来ても私たちの体は全然動かないということがわかりました。

「カルシウムはものすごく大切だ」と言いますが、実はカルシウムは私たちの体にとって、もともと毒なのです。少しあると非常に大切な役割をするのですが、大量にあると細胞の死を引き起こします。

カルシウムは細胞内での情報を伝える大切なイオン

図10のように、細胞の外から刺激が来ると、細胞膜で最初の刺激が別の刺激に変換されるので、外からの刺激をファーストメッセンジャー(1次メッセンジャー)に対して細胞内でのものをセカンドメッセンジャー(2次メッセンジャー)といいます。IP3という2次メッセンジャーは、なんと細胞の中にあるカルシウムの袋からカルシウムを出すという大変重要な役割をしていることがわかりました。しかしその

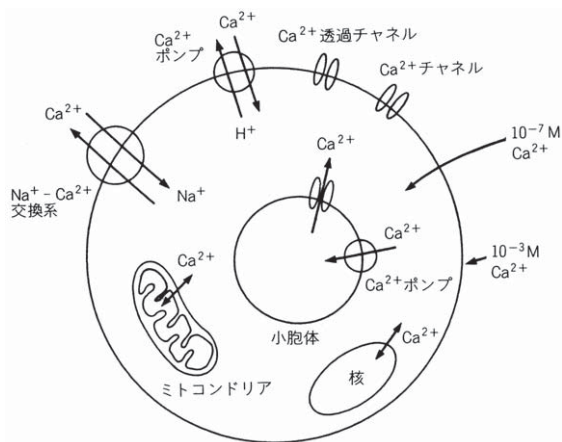


図10 細胞内の Ca^{2+} 調節系

カルシウムは、地球上の金属イオンの中で、私たちが一番多く使っているイオンです。一番多い場所は骨ですが、沈着した形なので無毒です。骨のカルシウムと血中のイオン化したものが非常にうまくバランスをとっています。血液の中に入っているのはイオン化したものです。

細胞内のカルシウムの波や振動が生命現象に重要

細胞の外は 10^{-3}M という非常に濃い濃度で、細胞中は 10^{-7} ですから、細胞内外で1万倍の濃度差があります。最近、細胞の中にはカルシウムの袋があって、 IP_3 が袋から出すことはわかっていたのですが、そのメカニズムが全く知られていませんでした。プルキンエ細胞の欠損している小脳で、欠損ないしは著明な減少をしていた P_{400} という蛋白質が IP_3 レセプターであることを発見して、その全構造の決定とともに Ca^{2+} チャネルであることを明らかにしました。

私たちの神経細胞も、グリア細胞も、肝臓の細胞も、すべてある一定のカルシウムのリズムを持っていることがわかりました。それをカルシウムの波とかカルシウムの振動といいます。いろいろな蛍光色素を使うことによって、目で見えるようになってきました。

カルシウムの波や振動は図11に示したとおりです。このカルシウム波や波動はたいへ

ん重要で、あとでご紹介しますが、 IP_3 受容体を完全になくすと、動物は小脳失調や痙攣を起こして死んでしまいます。

IP_3 受容体は、タイプ1, 2, 3と3種類あるのですが、タイプ1はニューロンにたくさん含まれていますが、それがなんと卵にたくさんあるのです。卵に精子が来て、受精することによって精子の付着点からゆっくりとしたカルシウムの波が起きます。これが起きることによって、初めて細胞の分裂が進んでゆきます。そのときにカルシウムの波を止めてしまうと、いくら精子がたくさん入っても何も起きません。ですから、われわれがここにいるのはカルシウムの波のおかげだと言えます。

実際に、男性不妊の原因の半分は精子にあります。また未熟な精子は卵に着いても波を出せません。そこで、ネズミを使って、カルシウムの波を出すことができない未熟な精子と、カルシウムの波を出す薬と一緒に混ぜると、ちゃんと波ができて、受精して、分裂して、子どもができるのです。子宮に戻してやると健康な子どもができますし、大きくなってから交配しても元気な子どもができます。ですからカルシウムの波は、私たちの存在にとって非常に重要な分子だということになります。

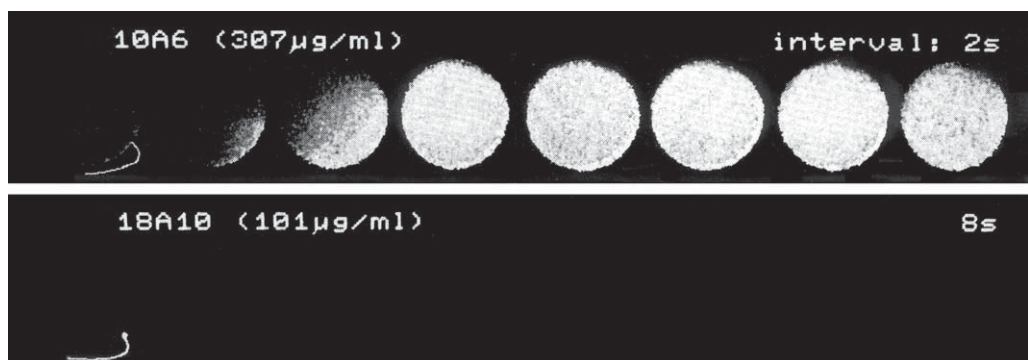


図11 受精に IP_3 と IP_3 受容体が必須であることの証明

正常では精子が接合した部位から Ca^{2+} 波が起きるが(上段)、 IP_3 受容体を抗体で抑えると Ca^{2+} 波が起きない(下段)。
[宮崎ら, Science 257, 251-255, (1992)より]

背腹軸形成に関わるカルシウムとIP₃レセプター

これからご紹介するのは、背中とおなかの軸を決定するのにカルシウムが大事であるという結果です。

外から内側に入るのは、従来のカルシウムチャネルによっていることは知られています。細胞内外で1万倍の濃度差があるので、チャネルが開くことによって外側のカルシウムが入ってきます。これからご紹介するのは、外側からのカルシウム流入ではなくて、IP₃レセプターを介して細胞内の袋から出るものが背中とおなかの軸を決めるのに決定的に重要だったという結果です。

簡単に結論だけを言います。抗体をおなか注射すると、おなかで背中になってしまいます(図12)。ただ、これは完全な背中にはなりませんので、カルシウム以外にも別の因子が働くこともわかってきました。ここで背中とおなかの軸決定には、いろいろなファクターのバランスによっていることを図13で紹介いたします。

骨を作るのに働くBMP4(骨形成因子)という分子が、発生の早い時期、つまり受精し

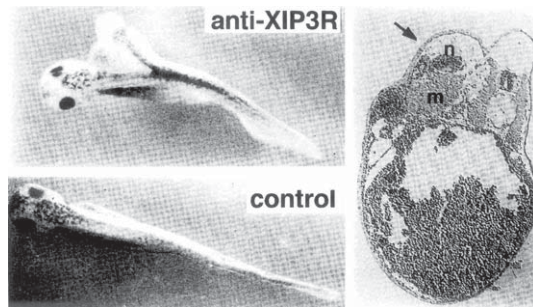


図12 背・腹の体軸形成にカルシウムが関与

左上: アフリカツメガエルの受精後4細胞期胚の腹側へIP₃受容体の機能阻害抗体を注入すると、腹となるべき部位に2次軸としての脊髄ができる。受精後3日目のオタマジャクシ。

左下: 対照抗体では正常な発達をする。

右: 左上の断面図。nは2次軸として形成された神経管。
[衆ら, Science 278, 1940-1943, (1997)より]

て4細胞、8細胞のときに腹側化する因子として働いているということが、この数年の分子生物学の進歩によってわかってきました。ですからBMP4(骨形成因子)を大量に加えると、体中全部おなかになって神経がなくなってしまいます。脳神経系が消えてしまいます。BMP4とIP₃レセプターの阻害抗体を同時に加えると、神経系ができます。

つまり私たちのおなかと背中のバランスは腹側化する因子と背側化する因子との balan

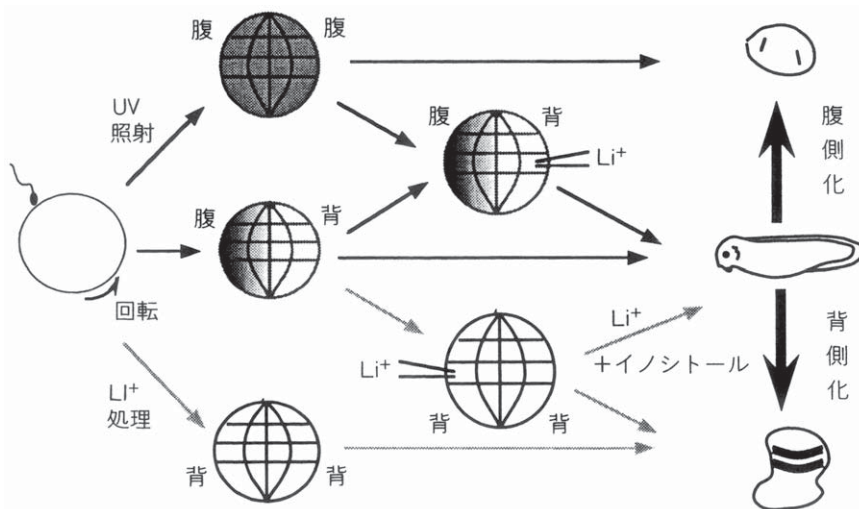


図13 リチウムの初期胚に対する作用

アフリカツメガエル初期胚をリチウム液に浸すか、あるいは将来の背側になる割球にリチウムを注入すると、セメント腺や目が放射線状に形成される、いわゆる過背側化が起きる。このリチウムの効果はイノシトールとの共注入でレスキューできる。逆に紫外線(UV)照射で表層の回転を阻害される胚は腹側化されるが、リチウムを注入することによって正常胚に回復させることができる。リチウムはPI代謝の阻害剤と考えられているので、初期胚では腹側ではPI代謝の活性が高い(色が濃い)と考えられる。[Berridgeら, Cell, 59, 411-419, (1989)のレビューより改変]

スで決まっています、腹側化する因子としてIP₃レセプターを介するカルシウムが関わっていることがわかったのです。私たちが脳で見つけた抜けていた分子が、実はこんな早い時期に私たちの体づくりに関わっていたのです。

ニューロンの突起伸展に関わるカルシウムとIP₃レセプター

脳神経系が働く上で重要なことは、ニューロンが突起を伸ばして相手を認識して、シナプスという構造を作ることですが、私たちはカルシウムがこの突起を伸ばすのに非常に大事な役割を果たしていることを、レーザーを使った方法で証明しました。

脳の研究はいろいろな技術を導入することが必要で、生理学とか生化学とか、一つの分野だけで研究をやっても、なかなか全体像をつかめません。現在は物理学、物理化学、あるいはサイクロトロンを使ったいろいろな研究や技術を導入することが必要になっています。その一つとして、モデル系として使った培養した後根神経節を用いてレーザーを使った例を図14で紹介します。

神経節細胞の細胞体から突起を伸ばしますが、その先端部を神経成長円錐（グロース・コーン）といいます。レーザーを当てると、照射された所が全部壊れてしまいます。ですから分子特異性はありません。抗体は分子特異性があるので、抗体を使うことにしました。

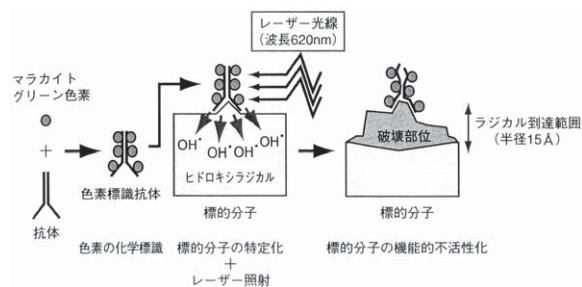


図14 CALI法の原理

色素標識した抗体による特異的な結合で目的の分子を特定化し、レーザー照射によって生じるフリーラジカルで標的分子の構造を変化させて機能を不活性化させる。CALIはChromophore-Assisted Laser Inactivationの頭文字をとって名づけられたもの。
[竹居，御子柴，実験医学，Vol17，No.16，73-81，(1999)より]

抗体にマラカイトグリーンという色素をつけて、その色素の吸収波長のレーザーを与えるるとラジカルが出され、そのラジカルが抗体を認識した標的の分子を壊します。

IP₃レセプターは細胞体、突起部分や神経成長円錐にもありました。突起にレーザーを当ててIP₃レセプターを壊しても何も起きません。しかし、神経成長円錐に当てると退縮するというので、私たちはここが神経突起伸展の司令塔であることを明らかにしました。細胞外からのカルシウム流入が、突起伸展に関わっていることは、すでに知られていましたが、私たちは小胞体という細胞内のカルシウム貯蔵庫からの放出が、神経成長円錐で重要であることを見つけることができました。

てんかんと小脳失調をおこすIP₃レセプターの欠損マウス

これまで、物理化学的な手法あるいは抗体を使って、ある分子をノックアウトするいくつかの例を紹介しました。最近の発生工芸技術の進歩で、個体レベルである遺伝子を入れ替えることもできるようになりました。正常の遺伝子を切り出して、別の遺伝子とすぐ替えることができます。あるいは、この遺伝子だけを切り取ることができます。制限酵素という酵素があるので、特異的にある場所ではさみで切れます。

たとえば、ここに病気の遺伝子があるとするとすれば、それを切り出して、正常の遺伝子を入れることも可能になっています。逆に、正常のネズミに病気の遺伝子を入れ替えて、病気の遺伝子を持ったネズミを作ること可能です。

では、IP₃レセプターの遺伝子の欠損した動物の症状はどのようなものでしょうか。

この分子は、小脳のプルキンエ細胞というニューロンに大量に含まれているので、私たちが予想したのは小脳失調でした。しかし、図15のような症状は実はてんかんと小脳失調の複合症状



図15 IP₃受容体欠損マウスのでんかんと小脳失調の複合症状

[松本ら, Nature 379, 168-171, (1996)より]
だということが、あとでわかりました。

ジアゼパムやバントバルビタールという抗てんかん薬を加えると、てんかんが消えてしまって、私たちが最初に予想していた小脳失調 (ataxia) が出てきます。抗てんかん薬のジアゼパムに対するブロッカーを加えると、またてんかんが出てきたということで、治療的診断から、このネズミはてんかんプラス小脳失調の複合症状だったことを証明できました。

このネズミを使って何ができるかという、新しい抗てんかん薬のスクリーニングです。逆にこのネズミの解析によって、IP₃レセプターが、てんかん、運動失調を起こさせないようにする大事な分子だということがわかってきたのです。

小脳の記憶現象とカルシウム

さて、小脳には長期抑圧という脳の可塑性な性質があり、小脳における運動学習の基本過程と考えられて、多くの研究者がその分子メカニズムの解明に取り組んでいます。

プルキンエ細胞には顆粒細胞の軸索である平行線維と、下オリブ核というニューロンの集合場所からの登上線維の二つの入力を受けています。この二つの入力を同時に頻回受けると、平行線維とプルキンエ細胞とのシナ

プスの伝達効率が長期的に抑圧されます。

IP₃レセプター欠損マウスでは、この「長期抑圧」が消失していました。また、ノックアウトマウスでは発生過程での障害がある可能性があるので、抗体を加えますと同じく「長期抑圧」が消失しました。結論として、この分子は長期抑圧という記憶現象にも関わっていることが証明できたことになります。

IP₃レセプターは、受精にも、背中とおなかを決めることにも、ニューロンの突起伸展にも、さらに脳の記憶現象にも関わっていたことがわかってきたのです。

ニューロンの位置を決定する遺伝子

今度は、私たちの脳はもともとは一層の細胞で、それが増えることによって、大人の脳に見られるみごとなニューロンの層ができますが、その6層のニューロンの層構造がつくられるメカニズムは何かということは、古くから多くの人が興味を持ち研究を進めてきました。

私たちは、異常から正常を見ることにより解析の糸口を見つけることができました。滑脳症 (lissencephaly) は、ヒトの病気でもあります。滑脳症の患者さんは、脳のしわが全くありません。

マウスの小脳にはきれいなしわがありましたが、完全にのっぺりとしています。脳のしわがないことに加えて、ニューロンの位置異常が見られます。ネズミに滑脳症があったのです。生後3日の小脳では、非常にきれいなしわができていますが、リーラー (reeler) というネズミにはしわがありません。もう一つ重要な点は、表層のすぐ内側にあるべきプルキンエ細胞が、小脳の中央にたまったままになっています。

図16は有名な解剖学者レイモン・y・カハールの本から取ってきましたが、この6層の神経細胞の一層だけペルオキシダーゼという酵素の取り込み法でラベルしてみます。

正常の場合にはきれいに並びますが、リーラー (reeler) では脳内のニューロンの位置

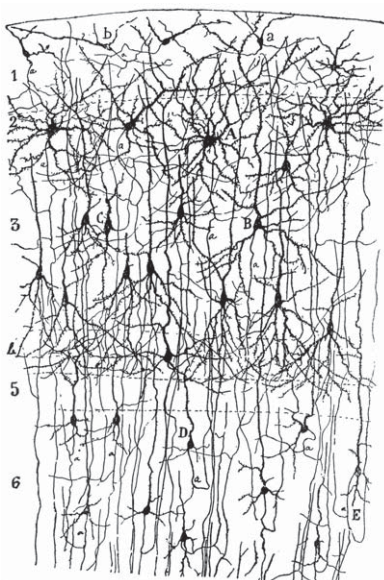


図16

大脳の6層のニューロンは相互に突起を出して連絡している。[Ramon Y Cajal: Histologie du Systeme Nerveux, 2巻, 1972, p.149より]

がめちゃくちゃです(図17)。実はヒトの滑脳症でも全く同じです。私たちはこの遺伝子を2つ手中に収めています。

リーラーマウスでの滑脳症の遺伝子異常

リーラー (reeler) マウスをどのようにして解析したかをご紹介します。

ニューロンの位置異常が、もし1個1個のニューロンの異常によるとするならば、リーラーのネズミの脳と正常のネズミの脳を混ぜ合わせたキメラマウスの脳の中でも、半分は異常のはずです。リーラーマウスと野生型マウスより8細胞期の胚を取ってきて、混ぜ合わせて子宮に戻します。これは実験動物中央研究所の横山峯介博士たちと共同でやったものです。

これはキメラマウスといいますが、このネズミを使うことによって、病気の細胞と正常の細胞を隣り合わせにした際の解析によって細胞そのものに原因があるのか、他の体液性因子などに原因があるかを調べることができます。

実際にこのキメラマウスの脳内を調べてみ

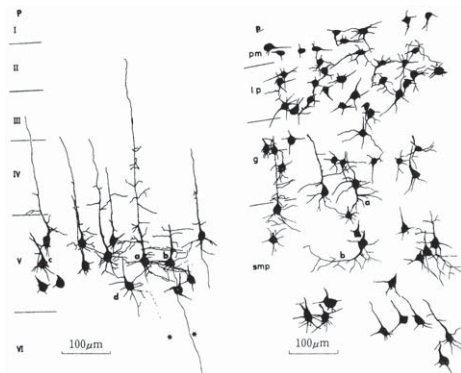


図17 正常マウス(左)とリーラー変異マウス(右)の大脳皮質内のニューロンの位置

リーラー変異マウスではニューロンの位置は乱れている。人工キメラマウスの研究でリーラー変異マウスにおける位置異常は分泌分子の異常によることが明らかとなった。

[寺島ら, J. Comp. Neurol.218,317:319, (1983)より]

ると、脳の中は全く正常になっています。海馬のニューロンもきれいに並んでいます。この結果から、分泌分子によっていることが明らかとなりました。そこでリーラーマウスに野生型のマウスの胎仔脳を免疫して、リーラー遺伝子に対する抗体を作製して、それがリーリンという遺伝子産物であることを明らかにしました。その分子は一番表層にあるカハール・レッチウス細胞という脳の発生過程で最初につくられるニューロンでつくられて、分泌されていることが解りました。

新しい滑脳症モデルマウス「ヨタリマウス」

私たちは、IP₃レセプター欠損マウスのコロニーから新しい突然変異のマウスを発見しました。ヨタヨタするからヨタリ (yotari) という名前をつけました。リーラーマウスと同様に、ヨタリもみごとにしわがありません(図18)。この両方のマウスを交配しても異常な子どもはできないので、これは独立の変異であることがわかります。

海馬は記憶に関わる場所だと言われていて、きれいにニューロンが並んでいます。リーラーとヨタリマウスでは、ともにニューロンの位置が乱れています。

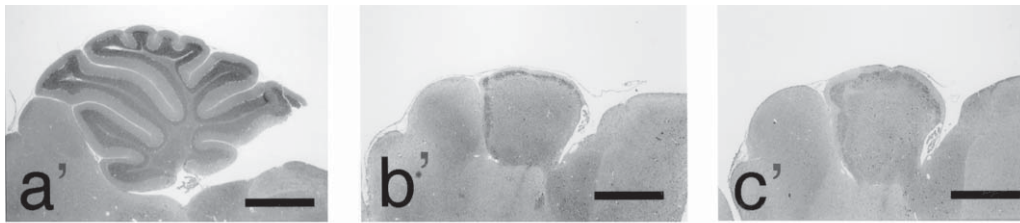


図18 小脳のしわ形成のないヨタリ・マウスとリーラー・マウス

〔Neurosci.Res.1997, Nature 1997〕(a')正常マウス小脳 (b')ヨタリ・マウス小脳 (c')リーラー・マウス小脳。
ヘマトキシリン・エオジン染色。

私たちは、ヨタリマウスの変異がディスエーブルドという遺伝子の異常であるということ を明らかにしました。ディスエーブルドはもともとショウジョウバエで見つかった遺伝子でしたが、哺乳類ではニューロンの位置決定する遺伝子だったのです。

脳のしわ形成、あるいは神経細胞の位置決定は、遺伝子によって決定されていることがわかりました。

神経発生に重要なZic遺伝子

最後に私たちがZicという名前をつけた遺伝子について簡単に紹介します。

これは、もともと大人の小脳の顆粒細胞に豊富に発現しており、亜鉛を結合するZinc fingerモチーフを持っていたのでZic（亜鉛のZiと小脳cerebellumのCをとりZic）と命名しました。現在5つのアイソフォームを見つけましたが、驚いたことに3は臓器の左右不定位や逆位、1は小脳の低形成、2はヒトの13q症候群という病気の遺伝子そのものでした（図19）。

	マウス 座位	ヒト 座位	ヒトの疾患、または ノックアウトマウスの症状
Zic1	9	3q24	小脳のパターン形成異常と低形成、 椎骨および肋骨の形成異常(マウス)
Zic2	14	13q32	13q syndrome (ヒト) 顔面奇形、 脳の低形成および骨格系異常(マウス)
Zic3	X	Xq26	内臓逆位、内臓不定位(ヒト)

図19 Zic欠損による発生・発達障害

遺伝的制御を受けるミエリン形成

神経細胞の軸索という突起には髄鞘（ミエリン）があり、情報を伝えるために大切な役割を果たしていますが、このミエリン形成はミエリン形成遺伝子による制御を受けています。

ミエリンは、オリゴデンドロサイトというグリア細胞が、非常に細かい突起をニューロンの軸索を巻いてつくられます。ミエリンを構成する蛋白質はほとんど同定されて、その遺伝子のクローニングもなされています。ミエリン形成もかなり厳密な遺伝子支配に基づいています。

ミエリン構成蛋白質に異常が起きると、個体レベルでは震えになります。これはヒトのミエリン形成不全の病気と全く同じです。

遺伝的制御と環境因子

ですから私たちの脳の形成は、かなり遺伝的に決まっています。ヒトのゲノムサイズを調べると、ハプロイドあたり 3.2×10^9 塩基対しかありません。ニューロンの数は 10^{12} 、シナプスは 10^{15} 、グリア細胞は 10^{13} で、1個1個の神経細胞をコードするだけの遺伝子はあ

りません。

すでにいくつかの例をご紹介してきましたが、一つの遺伝子の変異によって神経細胞の位置が、リーラーやヨタリマウスのように乱れてしまいます。あるいは一つの遺伝子の異常によって、プル

キンエ細胞や顆粒細胞などの一群のニューロンが、特異的に消えるのです。ということは、1個1個の神経細胞の情報をコードするのではなくて、あるパターン化で物事を決めているらしいということが端的にわかります。そのことによって、少ない遺伝子の数で脳の多様性を決めていることがわかります。こういう遺伝子の知恵があるわけです。

脳は遺伝的制御から逃れる術を得た

私たちの脳の形づくり、あるいは働きを全部遺伝子が決めているということを話してきましたが、次に、いかに私たちの脳が遺伝子の支配から逃れたかという話をします。遺伝ですべて決まっているとするならば、勉強する必要も努力する必要もないことになります。

脳の可塑性

もう一度小脳に戻りますが、ここにプルキンエ細胞があります。先ほどすでに話しましたが、顆粒細胞と登上線維を同時に頻回刺激を加えると、シナプスの可塑性が起きることはすでに述べました。

大脳の海馬では、反復刺激を加えるとシナプス伝達効率が上がります。これを長期増強といっております。つまり、いろいろ外から刺激を加えることによって、可塑性（プラスチックティー）を得るのです。つまり脳の働きが変わり得ることが、これでわかります。では、かたちがいかに変わるのでしょうか。

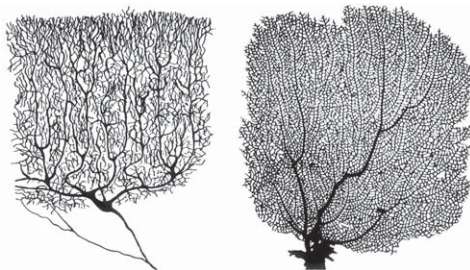


図20 ニューロンの美しさと働き

小脳のニューロンであるプルキンエ細胞は、木の葉（右）と似た形をしていて、みごとな形づくりをしている。この形づくりのためには、遺伝子で決定されている部分と環境により制御されている部分がある。この美しさと働きとは密接に関連していて、形づくりが悪いと働きも悪い。

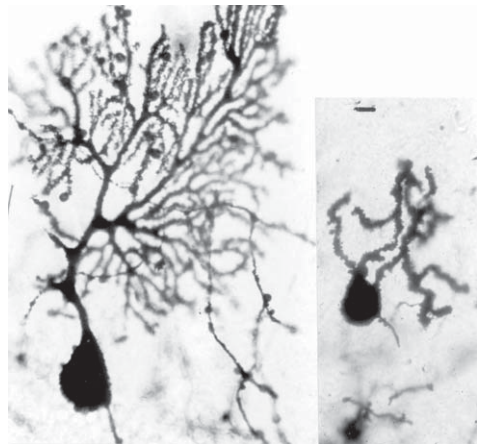


図21

正常のマウス小脳プルキンエ細胞（左）に比べて、生まれつき入力のないプルキンエ細胞（右）は、突起の張り具合も悪く未熟な状態にとどまっている。

環境因子により細胞の形が変わる

図20の左はヒトのプルキンエ細胞です。右は木の葉っぱです。プルキンエ細胞は木の葉っぱと同じで、90°ずらすと線状にしか見えません。プルキンエ細胞には2～10万の入力が入っており、みごとな形ですが、この入力が遮断されると、このきれいな形態がくずれてしまいます。

ネズミのプルキンエ細胞もきれいな形をしています。リーラーマウスでプルキンエ細胞に正常の入力の入らない場合は、細胞は幼若形を示します（図21）。リーラーマウスでも、たまたま正常の場所にあるものは、入力のある場所では見事な形づくりをしています。ですから、いかに刺激が大切かということになります。

同じように相手の細胞が変性すると、これと連絡して細胞が変性脱落してしまいます。つまり、これは単に握手しているだけではなくて、お互いに栄養因子を受け渡ししていることがわかります。そういう形の刺激を絶えず加えることによって、両方の細胞が生き残ります。通常受けていた刺激がなくなると、その刺激を受けていた細胞の働きや形は、極端に異常になります。

縦縞と横縞

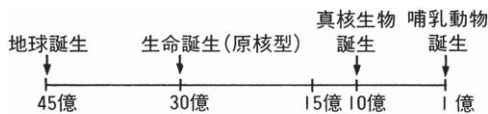
生まれてすぐのネコを縦縞の筒の中に入れて、自分の体が見えないように首にカフをつけて縦縞だけにします。そうしてある時期に出してやると、縦縞には反応しますが、横縞は見えていても見えません。横縞の筒に入れて、横縞の首の傘をつけてやると、横縞には反応しても縦縞には全然反応しません。

ここで環境因子が重要であることがわかります。生まれてきた子どもをまっさらなところに入れて、なんの刺激もない状況に置いたら大変なことになります。たとえば、生まれてすぐの子どもに眼帯をずっとかけっ放にしたら大変なことになるので、眼科の先生は最小限の時間で眼帯を取ります。

種の違いによる細胞当りのDNA含量の比較

次に、ハプロイド当りの遺伝子の量を比べて見ましょう（図22）。

バクテリオファージでは、確かにDNA含量は少ないのですが、ホモサピエンス（ヒト）やネズミやショウジョウバエでは、かなり似た値となっています。ショウジョウバエではヒトとほとんど同じオーダーで、ヒトと2～3倍違うだけです。実はわれわれは、遺伝子的に見ると、ほとんどその量に関しては進化していません。



生物種	ゲノム・サイズ (DNA/ハプロイド)	
	分子量	塩基対
φX174	1.6×10^6	5375
SV40	3×10^6	5224
アデノウイルス	1.4×10^7	21000
λファージ	3.0×10^7	45000
T2ファージ	1.3×10^8	2×10^5
<i>Escherichia coli</i>	2.8×10^9	4.2×10^6
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	10^{10}	1.5×10^7
<i>Drosophila melanogaster</i>	10^{11}	1.4×10^8
<i>Mus musculus</i>	1.7×10^{12}	2.7×10^9
<i>Homo sapiens</i>	7.0×10^{12}	3.2×10^9

図22 各生物種のゲノム・サイズ

数多くのニューロンを獲得したことにより遺伝的支配から解放された

では、何がわれわれ人間たる存在かという、もうすでに話をしましたが、実は脳の大きさです。これが圧倒的に大きくなっていること、すなわち1個1個の情報量は同じでも細胞の数が増えたことがポイントです。

下等動物は、1個の細胞に対して1個のニューロンがあって、少ないので遺伝的に2つの細胞は連絡すると決まっていた。ところが、ニューロンの数が圧倒的に増えると、1個の細胞が多くの細胞に対して突起を伸ばします。同じように1個の細胞は多数の入力

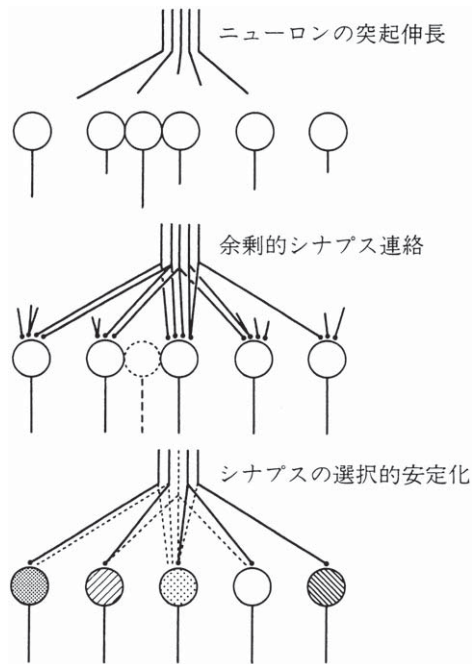


図23 ニューロンのネットワーク形成のモデル

上段：ニューロン(○)をめざして神経線維が伸びてくる。

中段：一つのニューロン(○)に対して多数の神経線維または1本の神経線維が多数のニューロンとシナプスをつくる。このシナプス連絡の余剰性は遺伝的に獲得されたものである(ニューロン数の増加に伴う脳の巨大化)。

下段：余剰的なシナプス連絡のうち、機能的に意味をもった働きをする連絡のみが生き残って、安定なシナプス連絡が形成される。その際、中段のシナプス連絡を受けずに、本来は来るべきはずの外界からの刺激のない場合は、未熟な形態と機能をもつニューロンとして残るか、不要なニューロンとして(○)除去される(ニューロン人間(1989)みすず書房、シャンジュー J.-P.著より)。

を受けますが、生理学的に意味のあるものだけが1つ残ります。

過剰な刺激が来ると細胞は死んでしまうことすらあります。また、入力が全くなないと、かわいそうにシナプスは消滅します（図23）。

われわれは数多くの神経細胞を獲得したことによって、細胞1対1の対応だけではなくシナプスの連絡に多様性を生み出して、そのうちで環境に合った本当に意味のあるニューロンだけが連絡し合うことができたことで、初めて遺伝的な支配から逃れることができました。

しかしこれも、突然変異によってニューロンの数が増えたことによる結果であると考えられます。

私たちは非常に素晴らしい脳を持っているので、この脳の無限の可能性をひき出して大いに活用して人類の幸福と発展の為に役立てていきたいと思います。