

分子マーカーから探る大脳新皮質の発生・進化における サブプレートニューロンの役割の解明

The role of subplate neurons in the development and evolution of the neocortex explored by molecular markers

東京都医学総合研究所・脳神経回路形成プロジェクト 丸山 千秋

胎児期に脳ができる際、数百億のニューロンの移動、配置や、神経回路形成は正確に制御されており、サブプレートニューロン (SpN) はそのキープレイヤーとして脳構築を促す¹⁻³。SpN 活動の不具合は発達障害等の原因になると考えられるがメカニズムは不明なままである。本研究は SpN の役割を明らかにすることで、SpN の神経活動ダイナミズムによる脳発達過程の全容解明を目的としている。

SpN は、分子マーカーの発現パターンからサブポピュレーションの存在が示唆されているが、明確なグループ分けはされていない。そこで、SpN をシングルセルに単離し各細胞での RNA シーケンスを行うことで、サブポピュレーションの同定を行った。シングルセル解析は、フリーダイン C1 システムで一度に 800 細胞まで解析可能である。得られたデータを解析し、分子の発現によるグループ分けを行った。その結果、SpN での発現量が多い遺伝子について *in situ* ハイブリダイゼーションを行なって発現の時期と場所を確認した。その結果、最終的に 33 遺伝子が候補として同定でき、そのうち 8 遺伝子は自閉症関連遺伝子として報告されている遺伝子であった。

SP 層は全ての哺乳類脳に存在するが、特に霊長類では肥厚化し、複雑脳の発達に寄与した可能性がある。そこで、なぜ霊長類脳では SP 層が厚いのか、そのメカニズムを調べるために、コモンマーモセットとヒトの胎児脳切片を用いて Visium 空間的遺伝子発現解析を行った。同時に既存のシングルセル解析データも用いて霊長類のサブプレートに高発現している遺伝子の同定を試みた。その結果、転写因子 ST18、レチノイン酸分解酵素 CYP26a1、およびヒアルロン酸合成酵素 HAS3 等の候補遺伝子が同定できた。いずれもマウスのサブプレートではほとんど発現していないのに対し、マーモセットとヒトのサブプレートでは発現が見られた。ST18 についてはマウスの SP 層で強制発現させることで SP 層の構築に何かしらの影響を与えるかどうかを確認し、過剰発現脳では E10 で標識されるサブプレートニューロンが、コントロールと比べて、接着性が増したような細胞塊状になっている様子が観察できた。また、CYP26a1 遺伝子については、サブプレートの中でも特に細胞密度の濃い一過性に現れるバンド状の薄い細胞層に強く発現していることが明らかとなった。以上の結果から、ST18 は脳進化の過程で、発生期の霊長類脳のサブプレートニューロン発現するようになり、それがサブプレートニューロンの増殖または挙動に何かしらの影響を与えた可能性が示唆される。今後は SpN の機能やその進化の分子機構についてさらに解析を進め、将来的には SpN 神経活動のダイナミズムと自閉症等の精神疾患発症の相関について明らかにしていきたい。

【参考文献】

1. Ohtaka-Maruyama, C., Okamoto M., Endo K., Oshima M., Kaneko N., Yura K., Okado H., Miyata T., Maeda N. Synaptic transmission from subplate neurons controls radial migration of neocortical neurons. *Science* **360**, 313-317 (2018).
2. Molnar, Z., Luhmann, H. J. & Kanold, P. O. Transient cortical circuits match spontaneous and sensory-driven activity during development. *Science* **370** (2020).
3. Ohtaka-Maruyama, C. Subplate Neurons as an Organizer of Mammalian Neocortical Development. *Front Neuroanat* **14**, 8 (2020).