

2007年1月9日

独立行政法人 理化学研究所

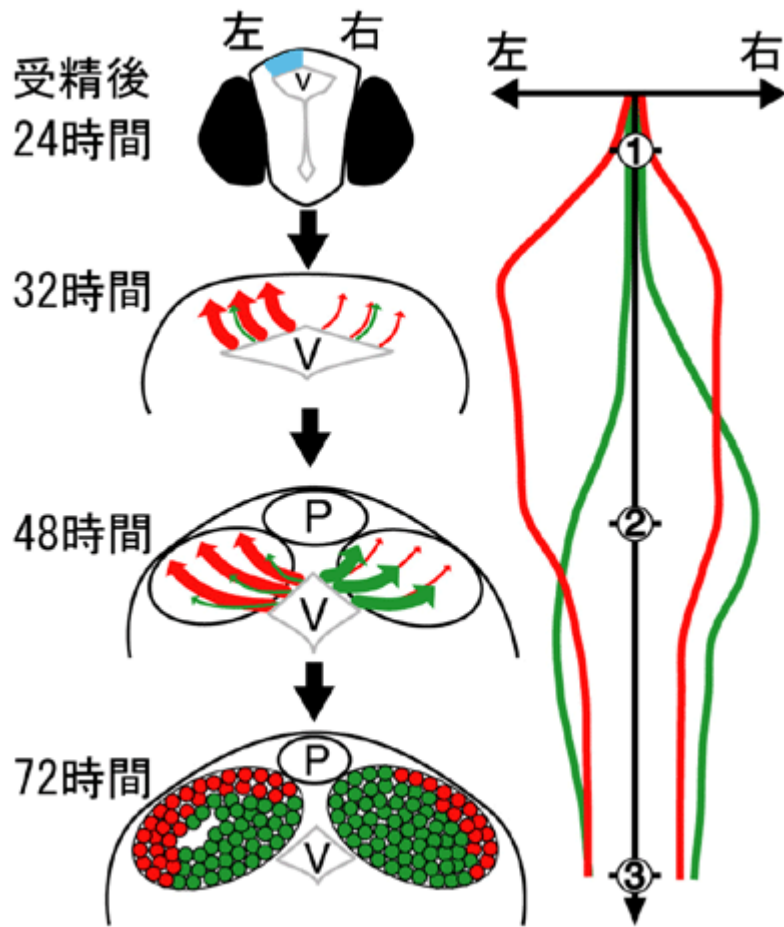
## 脳の右と左の構造の違いを生み出す分子メカニズムを解明

- 脳の進化の過程・社会行動の制御を探る新たな手がかりに -

脳は、左右で機能分担することにより、効率的な情報処理を行うことができると考えられています。例えばヒトの場合、言葉を話すときや、理解する際には脳の左半球が優先的に働きますが、人の顔の認識には脳の右半球が優先的に働きます。この左右非対称な脳の構造と機能には、密接な関係があります。ところが脳の右と左の構造の違いがどのようにして生み出されているかについては、謎のままです。

理研脳科学総合研究センターの発生遺伝子制御研究チームは、ゼブラフィッシュを使い、脳の情動に関わる“手綱核”における左右の構造的な違いが、発生時期の異なる2種類の神経細胞の誕生によることを発見しました。さらに、個体が発生する早い時期に出る信号が、非対称の神経細胞の誕生を制御していることを世界で初めて明らかにしました。これらの成果は、神経細胞の誕生が発生段階を通じて左右非対称に調節され、脳の右と左の構造の違いを生み出すという分子メカニズムの解明につながります。

左右の構造の違いは、脳の機能を分担し情報処理の効率化をする一方、右利きや左利きなどを通じた社会行動にみられる協調性を制御しているとも考えられ、本成果は集団生活などの社会制御を探る新たな手がかりともなります。



(図) 神経細胞誕生のタイミングと  
ゼブラフィッシュ尾綱核の左右非対称性

2007年1月9日  
独立行政法人 理化学研究所

## 脳の右と左の構造の違いを生み出す分子メカニズムを解明

- 脳の進化の過程・社会行動の制御を探る新たな手がかりに -

### ◇ポイント◇

- ・発生時期の異なる2種類の神経細胞の誕生により左右非対称な脳構造を形成
- ・発生早期に出る信号が2種類の神経細胞の誕生をコントロール
- ・脳の右と左の機能解明、進化の過程、社会行動の制御を探る新たな手がかりに

独立行政法人理化学研究所（野依良治理事長）は、発生生物学や遺伝学の分野でモデル動物として注目されるモデル動物、ゼブラフィッシュ<sup>\*1</sup>を用いて、脳の右側と左側の構造の違いを生む発生メカニズムを分子レベルで解明しました。理研脳科学総合研究センター（甘利俊一センター長）発生遺伝子制御研究チームの岡本仁チームリーダー、相澤秀紀研究員らによる研究成果です。

脳が左右非対称であることは、脊椎動物神経系の基本的特徴の一つです。特定の脳機能を片側に割り当て、反対側には別な脳機能を割り当てる、このようなメカニズムは、情報処理を効率的に行うための仕組みと考えられています。脳の右側と左側に構造的な違いがあることは、哺乳動物、特にヒトで詳しく調べられており、脳の左右非対称の構造と機能には、密接な関係があることが知られています。しかしながら、左右の構造的な違いがどのようにして生み出されるかについては、これまで、まったく明らかにされていません。

研究チームでは、モデル動物であるゼブラフィッシュを用い、情動と深く関わる「手綱核（たづなかく）<sup>\*2</sup>」と呼ばれる脳の部位に注目し、これまで謎とされてきた脳の右側と左側の構造的な違いが、発生時期の異なる2種類の神経細胞の誕生により生み出されることを発見しました。さらに、その分子メカニズムを探り、個体が発生する早い時期に出る信号が、非対称な神経細胞の誕生を制御していることを世界で初めて突き止めました。

本研究成果は、進化の過程で、脳の左右がどのようにして異なった機能を持つようになったかをつかむ新たな知見です。さらに、脳の左右非対称性は、機能分担により情報処理を効率化する一方、非対称性の方向（右利きや左利き）や非対称の程度（どの程度左右差があるのか）を通じて、社会行動にみられる協調性を制御しているともされ、このような研究を進める上で有力な手がかりになるものです。

本研究成果は米国の科学雑誌『Developmental Cell（1月号、1月8日付け・オンライン）』に掲載されます。

### 1. 背景

脳の左右非対称性は進化的に保存された特徴のひとつで、左右で機能分担することにより、効率的な情報処理を行うことができると考えられています。例えば、言葉を話すときや、理解する際には脳の左半球が優先的に働きますが、人の顔の認識

には脳の右半球が優先的に働きます。この左右非対称な脳の構造と機能には、密接な関係があります。例えば、言語能力が左右どちらの脳半球に局在するのかは、左右側頭葉の一部（側頭平面）の大きさの違いと相関があります。最近の研究で、脳の遺伝子発現や神経結合などに左右非対称性があることが知られてきましたが、このような左右の構造的な違いがどのようにして生み出されるかについてはまったく明らかにされていませんでした。

一方、脳の左右差はヒトに利き手があることや言語野が左脳半球に局在することから長い間ヒトに特有の現象と考えられてきました。そのため、モデル動物を用いた分子レベルでの詳細な検討は、されていませんでした。しかし、近年の脳科学研究により、この現象は魚類からヒトまで広くみられるものであることが明らかとなっており、大脳辺縁系のような大脳新皮質以外の部位においても機能的左右差が示されています。このように脳の非対称性はヒト脳に固有の特徴ではなく、現在では動物の神経系に広く見られるものと考えられています。例えば魚類、両生類、鳥類などでは特定の行動に対して、片側の脳を優先的に使うことが明らかになっています。このように、近年の研究結果は、左右の脳で行われる情報処理様式が、進化的に保存されていることを示唆しています。

それにも関わらず、現時点でこのような機能的非対称性を担う脳構造の発達様式は、驚くほど分かっていません。例えば、細胞増殖、分化、移動、細胞死など脳を構築するどのステップが左右差を形成する上で重要なのかは全く知られていません。この問題について研究チームでは、胚の透明性や確立された遺伝学的手法を持つゼブラフィッシュを用いて左右差を示す「手綱核（たづなかく）」という脳の部位に注目し、解析しました。

## 2. 研究手法

### (1) 神経細胞の誕生時期

右脳左脳を形成する神経細胞は、分裂を繰り返す神経幹細胞から分化し、分化した細胞はその後、細胞分裂しなくなります。神経幹細胞は、発生の特定の時期に特定のタイプの神経細胞を生み出すことが知られています。この様に違う神経細胞の誕生時期を調べるため、研究チームでは、発達中のゼブラフィッシュ胚に「ブロモデオキシウリジン (BrdU) <sup>\*3</sup>」という物質を取り込ませました。BrdUは、細胞分裂のDNA合成期に細胞に取り込まれ、分裂を繰り返す細胞ではその濃度が薄まっていますが、分化した神経細胞のようにその後分裂しない細胞では、高濃度のまま保たれます。このようにして右脳と左脳の神経細胞が誕生した時期を知ることができます。

### (2) 左右異なった比率で誕生する神経細胞の可視化

ゼブラフィッシュは発生時期を通じて脳組織の透明性を保持し、ほぼ原型のまま複雑な神経細胞の発達する様子を観察することができます。遺伝子導入技術により、分化していく神経細胞を、「kaede (カエデ)」<sup>\*4</sup>という蛍光タンパク質で標識し、どのタイミングで神経細胞が誕生するかを調べました。カエデは、当初緑色の蛍光を発しますが、紫外線を照射すると赤色の蛍光に変化します。この特性を利用し、緑色のカエデを発現する分化細胞を、紫外線照射により赤

色に光変換し標識します。その後、紫外線の無い暗所で飼育し、脳が発達した後に、標識された細胞がどのような細胞に分化していったかを調べることができます。

### (3) 神経細胞の分化タイミングの遺伝学的操作

神経分化のタイミングを操作する上で、研究チームでは分化を抑制的に調節している「Notchシグナル<sup>\*5</sup>」に注目しました。Notchシグナルが活性化するとその細胞は、未分化な状態にとどまります。温度変化により目的の遺伝子を誘導できる遺伝子導入魚を利用して、活性化型Notchタンパク質を特定の時期に誘導することができます。この方法により、脳の発達の様々な時期に神経分化を抑制し、脳の左右差形成に対する影響を調べました。

## 3. 研究成果

### (1) 神経細胞誕生のタイミングと脳の左右非対称性

ゼブラフィッシュの手綱核は、左側がより大きな外側亜核と右側がより大きな内側亜核に分けられ、それぞれに属する2種類の神経細胞集団により構成されています(図1)。研究チームのこれまでの研究から、この非対称性の方向は、内臓の左右軸決定に中心的役割を果たす「Nodalシグナル<sup>\*6</sup>」により制御されていることがわかっていましたが、脳の右側と左側の差異自身を形成するメカニズムについては不明のままでした。

この問題に取り組むにあたり、研究チームでは、内側亜核と外側亜核の神経細胞が異なった発生段階に誕生するために左右非対称な手綱核の構造が生まれるのではないかと考えました。すなわち、手綱核を構成する神経細胞の誕生のタイミングの違いが、神経細胞のタイプを決める上、左右非対称性形成に関与しているという仮説です。そこで遺伝子導入魚を用いて内側亜核及び外側亜核の神経細胞を識別し、それぞれの誕生時期を詳細に調べたところ、外側亜核前駆細胞はより早期に誕生し、内側亜核前駆細胞はより後期に誕生することが分かりました(図2)。興味深いことに、早期に誕生する外側亜核前駆細胞は左側でより多く誕生し、後期に誕生する内側亜核前駆細胞は右側でより多く誕生していました(図2)。さらに、紫外線照射により緑色から赤色の蛍光に変化するカエデを分化した神経細胞で発現させ、早期に左側で多く分化してきた細胞を標識すると、それらの細胞は後に外側亜核に移動していることが確認できました(図3)。

これらの結果は、発生時期の異なる2種類の神経細胞の誕生が左右非対称に調節されることで手綱核の左右非対称な構造が形成されることを示しています。

### (2) 左右非対称な神経発生を制御する分子機構

次に神経細胞の運命決定が誕生時期の違いによりどのように制御されているのかを調べました。注目したのは、神経幹細胞の分化活性を抑制的に制御しているNotchシグナルです。この分子機構を遺伝学的に操作することで、神経分化のタイミングをずらし、その際に左右非対称形成にどのような影響が出るかを調べました。

正常個体では、外側歪核および内側歪核には、それぞれ **leftover** 遺伝子、**righton** 遺伝子が発現しており、歪核の左右差を反映して、**leftover** 遺伝子は左側により強く発現し、**righton** 遺伝子はより右側に強く発現します (図 4A, B)。発生早期に **Notch** シグナルを過剰に活性化させると、本来早期に発生すべき外側歪核前駆細胞の分化が抑制され、**leftover** 遺伝子の発現が減少しました (図 4C)。一方、内側歪核は、本来発生後期に右側に多く誕生するはずですが、早期の神経細胞分化を抑制された個体では、左右両側に **righton** 遺伝子を発現する細胞が分化してきました (図 4D)。このことは、神経分化のタイミングを後期へとずらすことで、本来外側歪核前駆細胞が誕生する発生プログラムを神経幹細胞が回避して、分化抑制がなくなった後に、神経幹細胞が内側歪核前駆細胞を産生し始めたことを示唆しています。発生後期に **Notch** シグナルを過剰に活性化させると、右側での **righton** 遺伝子の発現が減少しますが、左側の **leftover** 遺伝子の発現はそれほど変化しません。

逆に **Notch** シグナルが機能しなくなっている **mind bomb** 突然変異体では、適切な分化抑制メカニズムが働かず、発生早期から神経細胞誕生が促進され、**leftover** 遺伝子を発現する外側歪核前駆細胞は、両側に多く分化していました (図 4E)。この突然変異体では、早期に神経幹細胞が分化し、枯渇してしまうため、本来後期に誕生する内側歪核前駆細胞のマーカー **righton** 遺伝子の発現が減少していました (図 4F)。

これらの結果は、神経細胞誕生のタイミングが左右非対称な外側歪核および内側歪核神経細胞の産生を制御していることを示しています。

#### 4. 今後の期待

脳の左右非対称性は、機能分担により情報処理を効率化する一方で、非対称性の方向 (右利きや左利き) や非対称の程度 (どの程度左右差があるのか) を通じて社会行動にみられる協調性を制御しているのかもしれない。例えば、回避行動時の曲がる方向をさまざまな魚で比べてみると、群れを成すなどの社会行動をする種類では、集団レベルで同じ方向に回避する傾向があります。種内で統一された防御機構を備えることで、生存に有利に働いている可能性があります。その一方で敵に逃避パターンを予期されやすく、生存に不利に働くとも考えられます。非対称の方向やその程度は、進化を通じた適応行動の制御機構として進化してきたのかもしれない。

今回の研究成果は、神経細胞の誕生が発生段階を通じて左右非対称に調節されることにより、脳の右と左の構造の違いを生み出すというメカニズムを明らかにするものです。左か右かというデジタルな決定機構に対し、今回明らかになった神経細胞誕生を調節するメカニズムは、どの程度左右の差を形成するのかアナログ的に制御する機構と考えられます。今後、ゼブラフィッシュのようなモデル動物での分子レベルの解析により、脳の左右非対称性による適応行動の制御メカニズムが解明されるものと期待されます。

(問い合わせ先)

独立行政法人理化学研究所

脳科学総合研究センター 発生遺伝子制御研究チーム

チームリーダー 岡本 仁

Tel : 048-467-9712 / Fax : 048-467-9714

脳科学研究推進部

嶋田 庸嗣

Tel : 048-467-9596 / Fax : 048-462-4914

(報道担当)

独立行政法人理化学研究所 広報室 報道担当

Tel : 048-467-9272 / Fax : 048-462-4715

Mail : koho@riken.jp

## <補足説明>

### ※1 ゼブラフィッシュ(Danio rerio)

コイ目、コイ科、ダニオ亜科に属するインド原産の体長5センチメートルほどの小型熱帯魚。コイや金魚に近い。飼育が容易、多産、世代交代期間が短いなどの特徴を持つ、脊椎動物のモデル動物。発生期間を通して胚が透明であることから発生生物学の実験などに用いられる。



### ※2 手綱核

手綱核は、魚類からヒトまで共通して存在する大脳辺縁系の一部。意欲や気分などの調節に重要なセロトニンやドーパミン神経系の活動を調節する中枢として知られ、その障害は、睡眠覚醒リズムの異常や薬物依存・統合失調症の発症などに関与するといわれている。

### ※3 ブロモデオキシウリジン(BrdU)

ブロモデオキシウリジン (BrdU) は、チミジン誘導物質であり、DNA 合成期の細胞核にチミジンの代わりに取り込まれる。取り込みが少ない場合は、DNA 合成、すなわち複製が正常に行われていないことを意味する。

### ※4 kaede(カエデ)

ヒュサンゴの彩りに関わる蛍光タンパク質。初めは緑色の蛍光を発するが、紫(外)

光の照射によって、赤色へ変換する。光で細胞などをラベリング（標識）する技術が、このタンパク質を使って開発された。緑から赤への変換は、不可逆的な反応による。理研脳科学総合研究センターの細胞機能探索技術開発チーム（宮脇敦史チームリーダー）によりその特性が発見された。

### ※5 Notch シグナル

動物界において、発生中のさまざまな細胞分化を制御する細胞間シグナル。幹細胞分化の重要な制御因子である。Notch 遺伝子は細胞膜を貫通する受容体型膜タンパク質をコードする。Notch タンパク質の細胞外領域が特定の基質タンパク質と結合すると構造変化を起こし、細胞内のタンパク質を連鎖的に活性化し、細胞分化の引き金となる転写を引き起こす。これまで同定された Notch と結合する基質はすべて膜タンパク質で、細胞の接触によりシグナルが活性化する。

### ※6 Nodal シグナル

細胞外に分泌される Nodal タンパクを中心とした信号伝達系で、将来、内臓を形成する中胚葉の左側に発現することで、体の左右の軸を決定すると考えられている。

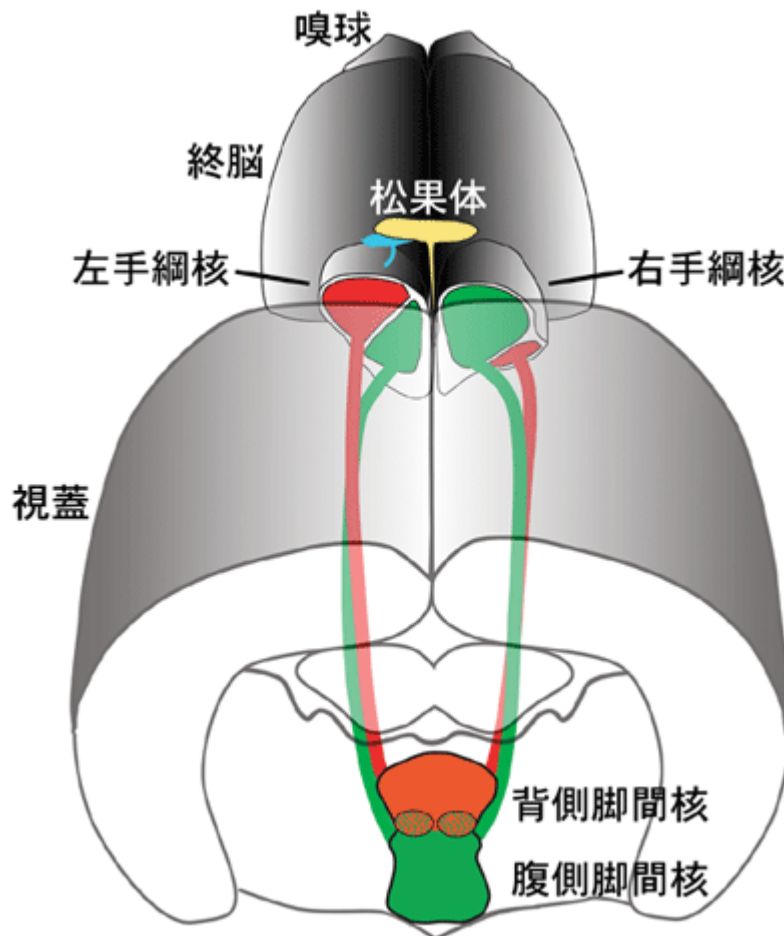


図1 ゼブラフィッシュの手網核神経結合の模式図



ゼブラフィッシュ成体脳を背側から見た模式図で、図上部が魚の前側に相当する。左右一対の手綱核は赤で示される外側亜核と、緑で示される内側亜核に分けられそれぞれ異なった結合パターンを示す。この亜核の構成は比率が左右で異なり、左側では外側亜核が大きいのに対して右側では内側亜核の方が大きくなっている。一方、結合標的の脚間核は正中に一つだけ存在し、そこに手綱核からの左右の神経情報が背腹軸に沿って結合することにより左右非対称な神経回路が形成されている。

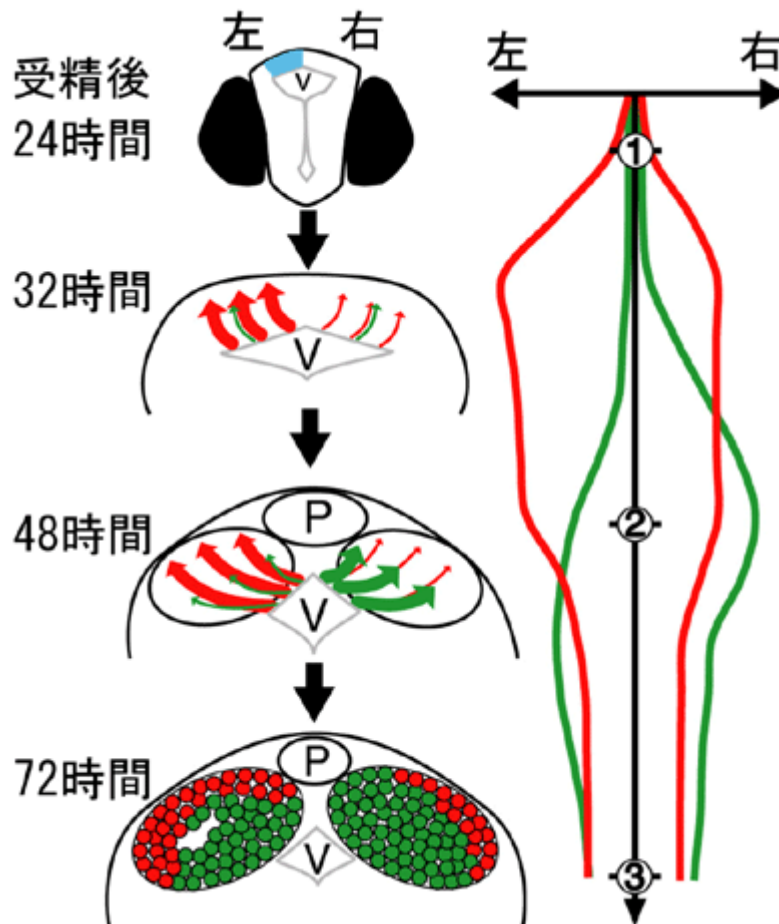


図2 神経細胞誕生のタイミングとゼブラフィッシュ手綱核の左右非対称性

各発達段階におけるゼブラフィッシュ手綱核の横断面（図左）と、神経細胞誕生の時間経過（図右）を模式的に示した。受精後 24 時間前後に Nodal シグナルが左手綱核原基で活性化し（水色）、それ以降、外側亜核前駆細胞（赤）および内側亜核前駆細胞（緑）が誕生し、受精後 72 時間後に見られる左右非対称な構造を形成する。図右のグラフは、外側亜核前駆細胞（赤の線）および内側亜核前駆細胞（緑の線）の誕生する時期を示したもので、縦軸の数字は受精後の日数を示している。

※ P：松果体、V：脳室

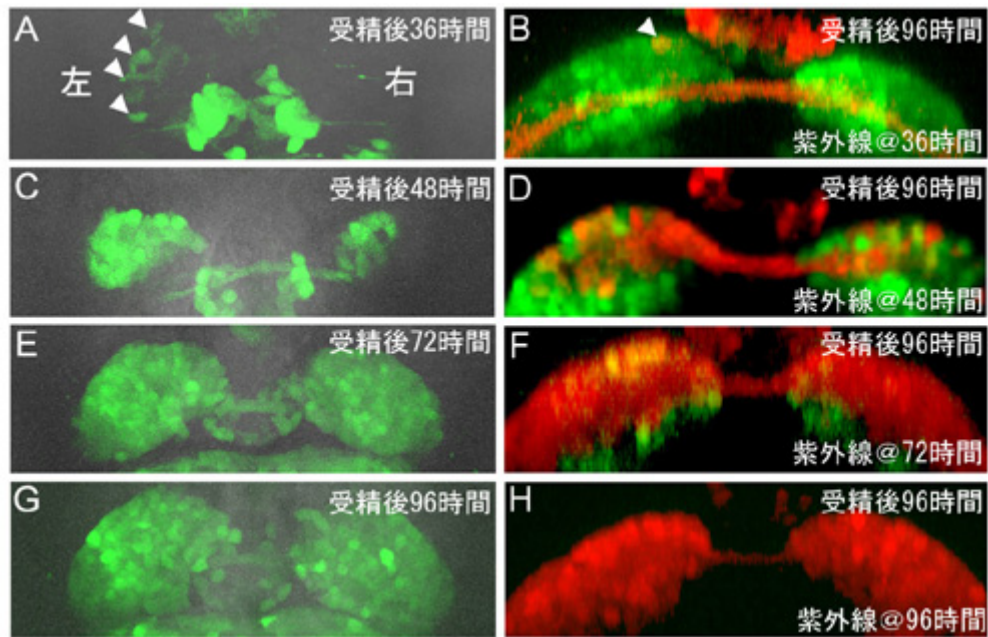


図3 遺伝子導入魚による左右非対称な神経分化の可視化

カエデを発現する遺伝子導入魚により、神経分化の経時的変化（A, C, E, G：背側から見た図）及び手綱核における分化した細胞のその後の位置（B, D, F, H：横断図）を示している。受精後 36 時間の時期に、標識された神経細胞が初めて左側に現れ（Aの矢頭）、発達に伴って右側での神経細胞誕生がみられるようになる（C, E, G）。カエデを、各発達段階で紫外線照射により緑色から赤色の蛍光に変化させ、光転換で標識された細胞の分布を後で調べると、早期に左側で誕生した神経細胞は外側亜核に分布していた（Bの矢頭）。より後期に光転換で標識された細胞は、外側亜核のほかに内側亜核にも分布していた（D, F, H）。

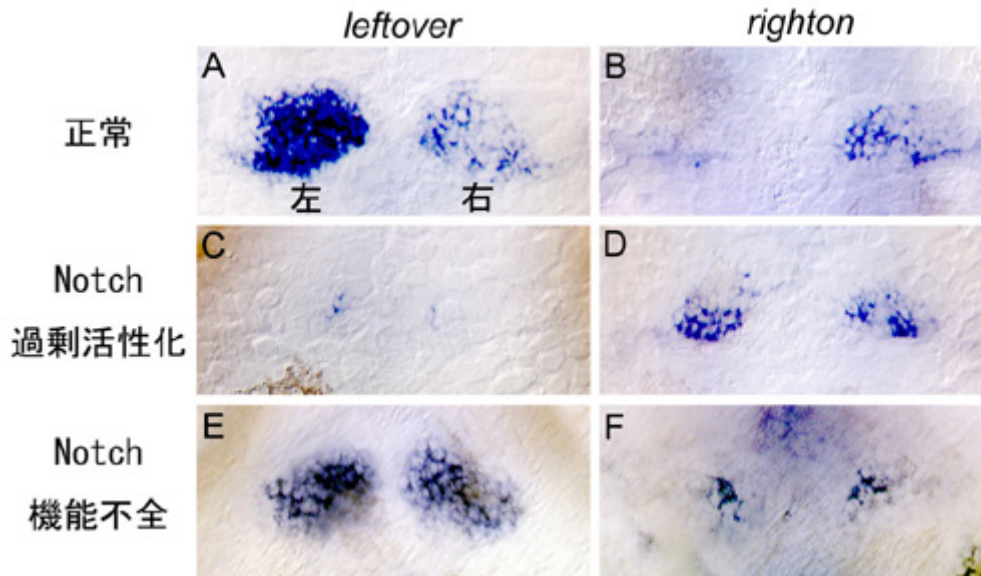


図 4 神経細胞の分化タイミングの遺伝学的操作による、左右非対称形成の異常

受精後 56 時間における正常個体 (A, B)、Notch シグナルを過剰活性化させた個体 (C, D) 及び Notch シグナルに異常のある *mind bomb* 変異体 (E, F) の背面像で、左側が外側亜核に発現する *leftover* 遺伝子、右側が内側亜核に発現する *righton* 遺伝子の発現パターンを示す。正常個体では、*leftover* は左手網核により強く発現しており (A)、逆に *righton* は右手網核により強く発現している (B)。受精後 32 時間の段階で Notch シグナルを過剰活性化させると、*leftover* の発現が両側で減少するのに対して (C)、*righton* を発現する多くの細胞が左手網核で観察された (D)。逆に Notch シグナルに異常をきたす *mind bomb* 変異体では、*leftover* を発現する細胞が右手網核でも多数観察され (E)、*righton* の発現は減少していた (F)。