

論文の内容の要旨

論文題目 カルシウム/カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼ I α は
大脳皮質興奮性神経細胞の放射状移動を制御する

氏 名 堀金慎一郎

【序文】

成体期と同様に発達期の神経系においても、細胞内カルシウムシグナリングは神経回路形成、神経細胞の分化、そして神経細胞死の誘導などといった様々な現象を制御している。そして脳構造を規定する層形成や領域形成に不可欠な神経細胞移動においても、細胞内カルシウムシグナリングが必要であることが複数の神経細胞種で言われてきた。しかしながら細胞内小器官の動態・配置変化を基礎とし周期的に複数過程を繰り返す神経細胞移動において、細胞内カルシウムシグナリングがいかなる役割を果たすのか、その具体的機能については不明な点が多い。この主因には細胞内カルシウムシグナリングが、神経細胞移動のいかなる過程で機能するかという作用点が不明であること、そして細胞内カルシウムシグナリングの分子の実体についての検討が十分にされていないことの2点が挙げられると考え、それらの検討を試みた。

【結果】

本研究ではまず、脳スライスを用いて移動中の幼若期大脳皮質興奮性神経細胞における細胞内カルシウム動態を可視化することで、細胞内カルシウムシグナリング活性を亢進させると考えられる細胞内へのカルシウム流入が、いかなる移動過程で頻発するかを評価した。実験結果から幼若期大脳皮質興奮性神経細胞の低速移動時に細胞内カルシウム上昇イベントが頻発することが明らかとな

った。なお移動中の神経細胞は細胞内小器官の周期的な動態・配置変化に基づき周期的に移動速度を増減させる。そのためこうした実験結果から、移動中神経細胞内では周期的な細胞内カルシウム量の増減が起こり、それが細胞移動の周期性を制御し移動を促進すると考えた。

そのため本研究では次に、薬理学的操作により移動中細胞内へのカルシウム量を人為的に増加・減少させ (L-type voltage gated Ca^{2+} channel activator FPL 64176 添加・カルシウムキレーター EGTA-AM 添加)、移動中細胞における周期的な細胞内カルシウム量の変動パターンを乱した際の細胞移動速度を定量した。その結果、いずれの操作においても神経細胞移動は抑制されていた。しかし一方で、細胞内カルシウム量の増加・減少操作によって移動中細胞は異なる移動過程の特徴を強く示した。なおこれは、細胞内カルシウム量の増加・減少操作によって移動中細胞内の核形態が球体形・楕円体形にそれぞれ近づくというものであった。以上の結果から神経細胞移動が継続して行われるためには、細胞内カルシウム量の周期的増加・減少に応答し、カルシウムシグナリングが核を含む細胞小器官の動態・配置変化を連続的に引き起こすことが必要であると考えられる。

上記の実験結果から、細胞内カルシウムシグナリングは幼若期大脳皮質興奮性神経細胞の移動過程を制御することが示唆された。そのため次に同神経細胞種での細胞移動を制御する細胞内カルシウムシグナリングの分子実体を検討した。当研究室による先行研究によって、 Ca^{2+} /Calmodulin dependent protein kinase (CaMK) $\text{I}\alpha$ が幼若期大脳皮質興奮性神経細胞の移動過程を制御することが既に示唆されていた。そのため本研究では新たに CaMKI α flox マウスラインの樹立を行い、更なる検討を行った。その結果これら一連の研究により、CaMKI α が神経細胞移動を制御することが明らかとなった。本研究における実際の実験結果としては CaMKI α cKO/KD で幼若期大脳皮質興奮性神経細胞の移動が抑制され、また CaMKI α constitutive active 体の強制発現によっても同じく同種神経細胞の移動が抑制された。更に CaMKI α constitutive active 体の強制発現によって移動中細胞は球体形の核形態を示した。こうした実験結果は細胞内カルシウム量の増加・減少操作のいずれにおいても神経細胞移動が抑制されるという表現形と類似し、また細胞内カルシウム量の増加操作に伴う核形態の表現形と同様であった。

【考察】

本研究で得られた実験結果を全て合わせて考えると、まず神経細胞の移動過程においては細胞内へのカルシウム流入量の増減が周期的に起こり、次に細胞内へのカルシウム流入量の増減に従いCaMKI α を含む細胞内カルシウムシグナリングの活性が増減し、最終的にそうしたカルシウムシグナリングが核など細胞小器官の動態・配置を周期的に変化させることで神経細胞移動が促進されるという一連の制御機構が考えられる。なお神経細胞の移動過程が周期的な細胞小器官の動態・配置変化に基づくことは既に多くの神経細胞種において言われており、そうした細胞小器官の動態・配置変化を制御するメカニズム解明は神経細胞移動を本質的に理解する上で不可欠と思われる。本研究において細胞内カルシウムシグナリングがこの周期的な細胞小器官の動態・配置変化を制御することが不完全ながら示され、こうした知見は神経細胞移動の根本原理解明の一助となるものと考えられる。