

[PRESS RELEASE]

令和4年1月10日



京都府公立大学法人
京都府立医科大学
KYOTO PREFECTURAL UNIVERSITY OF MEDICINE

温度環境によって変化する脳の発生メカニズムを解明

～リン脂質を介した温度依存的な Notch シグナル制御に関する論文掲載について～

本研究成果のポイント

- 卵生動物の神経前駆細胞※1では胎児期に神経分化を調節するシグナル活性が低温で上昇することを発見。
- 低温環境でのシグナル活性の上昇は細胞膜の脂質成分の変化によることを解明。
- Notch シグナル※2の温度感受性が動物種によって異なることを発見し、温度変化に应答する脳の発生プログラムの生理学的・進化的意義を解明。

京都府立医科大学大学院医学研究科 神経発生生物学 准教授 野村真ら研究グループは、温度環境に依存した脳発生メカニズムの一端を解明し、本件に関する論文が、英国科学雑誌『Nature Communications』に現地時間 2022 年 1 月 10 日付けで掲載されましたのでお知らせします。

本研究はこれまで知られていなかった、温度変化を感知し神経分化をコントロールする細胞自身の仕組みを明らかにしたものです。胎児が低温環境に置かれると細胞膜の脂質成分が変化し、神経分化を制御するシグナルの活性が変化することを解明しました。また、温度に依存した脳の発生メカニズムが動物種によって異なることも明らかとなり、生物の発生プログラムが低温環境に対する適応機構を独立に進化させたことが示唆されます。本研究成果をもとに、環境温度の変化による胎児の発生への影響や、温度ストレスによる様々な疾病の病態解明、また新たな治療法開発への貢献が期待されます。

【論文基礎情報】

掲載誌情報	雑誌名 Nature Communications 発表媒体 <input checked="" type="checkbox"/> オンライン速報版 <input type="checkbox"/> ペーパー発行 <input type="checkbox"/> その他 雑誌の発行元国 英国 オンライン閲覧 可 https://www.nature.com/articles/s41467-021-27707-5 掲載予定日 2022 年 1 月 10 日 10 時 (日本時間: 2022 年 1 月 10 日 19 時)
論文情報	論文タイトル (英・日) Temperature sensitivity of Notch signaling underlies species-specific developmental plasticity and robustness in amniote brains (ノッチシグナルの温度感受性は羊膜類の脳における種特異的な発生可塑性と堅牢性の基盤となる) 代表著者 京都府立医科大学大学院神経発生生物学 野村真 共同著者

～京都府立医科大学は 2022 年、創立 150 周年を迎えます～

京都大学大学院工学研究科合成・生物化学専攻/京都薬科大学薬品物理化学分野 長尾耕治郎 新潟大学 白井遼 京都府立医科大学大学院神経発生生物学 後藤仁志 京都大学大学院工学研究科合成・生物化学専攻/ホロボイオ株式会社 梅田眞郷 京都府立医科大学大学院神経発生生物学 小野勝彦
--

【論文概要】

1 研究分野の背景

動物の胚発生が胚体外の温度の影響を受けることは古くから知られています。特に、母体の外で胚が発生する卵生動物の場合、外気温の変化は発生のスピードに大きな影響を与えます。これまで、こうした発生の温度依存性は、組織や細胞内の代謝率やさまざまな酵素の至適温度（最も活性の高い温度）を反映していると考えられてきました。例えば、体温よりも低い温度では代謝反応が低下し、細胞の増殖や分化率が減少することが予測されます。一方、環境温度の変化を感知して、積極的にシグナル活性を変化させるような「能動的な」温度対応メカニズムについては、これまでほとんど明らかになっていませんでした。

我々ヒトを含む哺乳類は爬虫類や鳥類と同じ羊膜類と呼ばれる動物群に属しています。羊膜類は胎性と卵生、また恒温性（内温性）と変温性（外温性）という、種によって異なる発生様式と体温調節システムを進化させています。しかしながら、こうした動物の胎児期の細胞が環境温度の変化に対してどのように反応するのか、細胞・分子レベルでの解析はほとんど報告がありませんでした。

胚発生をコントロールする様々な細胞シグナルの中でも Notch（ノッチ）シグナルは、細胞の増殖や分化の制御に重要な役割を果たしています。特に脳の発生過程では、Notch シグナルは神経細胞の分化を調節しており、Notch シグナルの活性が高まると神経細胞の分化が抑制されます。いわば、Notch シグナルは神経細胞の産生のための「門番」の役割を果たしており、その機能は進化の過程で高度に保存されています。一方、このノッチシグナルの活性の変化が羊膜類の脳の進化に重要な役割を果たしたことが、以前の研究により明らかとなっています。

そこで本研究では、脳の発生過程における胚体外の温度変化の影響を調べるため、羊膜類（哺乳類、爬虫類、鳥類）の胚を用いて Notch シグナルの温度感受性を解析し、その背後にある分子メカニズムの解明を試みました。

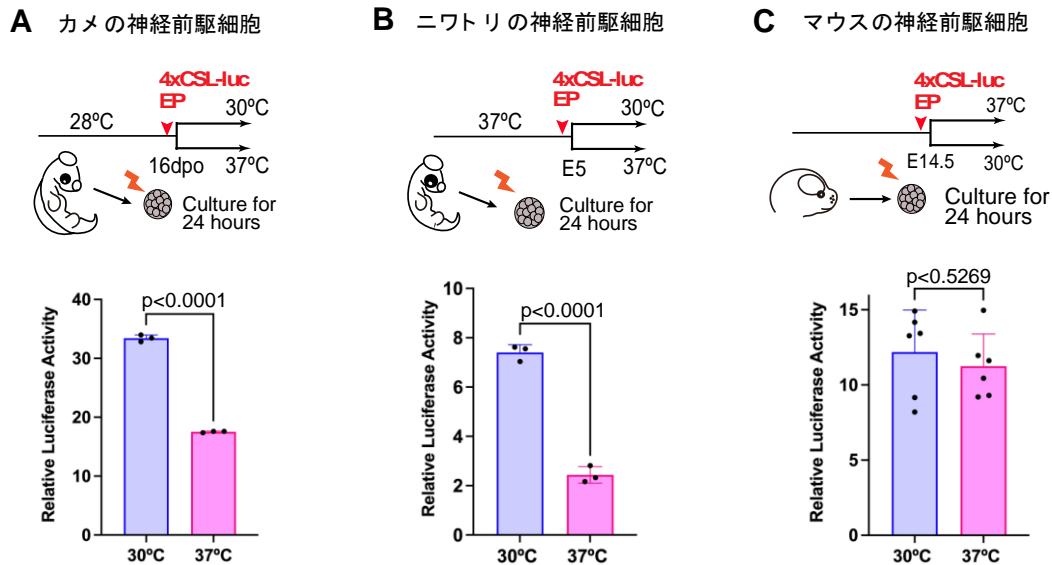
2 研究内容・成果の要点

まず、卵生動物（ニワトリ、カメ）の胚より神経前駆細胞を単離し、Notch シグナルの活性を測定するためのリポーターベクター※3を導入した後、神経前駆細胞を異なる温度条件（30℃および37℃）で培養しました。その結果、37℃での培養と比較して30℃での培養では Notch シグナルの活性が上昇することを確認しました。一方、心筋の細胞や繊維芽細胞ではこうした現象は見られず、低温での Notch シグナル活性の上昇は神経前駆細胞に特異的な現象であることが示唆されました。

またニワトリ胚を一定期間低温（30℃）で孵卵すると、大脳の神経細胞の分化が抑制されることを見出しました。低温における神経分化の抑制は Notch シグナルを阻害する遺伝子の導入によりほぼ完全に救済されました。こうした結果より、卵生動物の神経前駆細胞における Notch シグナル活性は低温で増強される特性を持つこと、その効果により神経細胞

の分化が抑制されることが明らかとなりました（図1）。

図1 神経前駆細胞における低温による Notch シグナル活性の上昇。カメ(A)、ニワトリ(B)では 30°C でシグナル活性が上昇した。一方、マウスの神経前駆細胞(C)における Notch シグナルは温度変化の影響を受けなかった。



低温による Notch シグナル活性の上昇がどのような分子機構によるものかを明らかにするため、異なる温度条件で培養した神経前駆細胞の遺伝子発現や細胞構成成分の分析を行いました。その結果、細胞膜を構成するグリセロリン脂質の1種であるフォスファチジルエタノールアミン(PE)※4の含有量が低温培養によって劇的に増加することを見出しました。PEは通常脂質二重膜の内層に局在し、細胞膜の流動性や膜構造に影響を与えることが知られています。また細胞分裂の際には一時的にPEが細胞膜の外層に局在し、分裂に必要なタンパク質の局在をコントロールしていることも報告されています。低温で培養した神経前駆細胞では細胞膜の外層にPEの局在が確認されました。さらに、PEの合成を人為的に阻害すると、低温培養でのNotchシグナル活性の上昇や神経分化の抑制効果が打ち消されることも確認されました。こうした結果より、ニワトリ神経前駆細胞における低温によるNotchシグナル活性の上昇は、特異的なグリセロリン脂質の合成と局在の変化に依存していることが明らかとなりました（図2）。

さらに、こうした温度依存的なNotchシグナル活性の変化が哺乳類でも見られるのかを検証するため、マウスの神経前駆細胞を低温(30°C)で培養した際のNotchシグナル活性の変化を測定しました。意外なことに、マウスの神経前駆細胞におけるNotchシグナル活性は通常温度(37°C)と低温(30°C)で変化がありませんでした。解析の結果、マウスの神経前駆細胞では温度に依存して遺伝子の転写とタンパク質の分解のバランスが調節されており、そのため温度が変化してもシグナル活性が一定に保たれていることが示唆されました。

しかしながら、動物種によってNotchシグナルの温度感受性が異なるのは何故でしょうか？哺乳類、爬虫類、鳥類はそれぞれ脳の構築過程に大きな違いがあります。特に哺乳類

の大脳皮質は胎児期に表面積が著しく拡大し、産生された神経細胞が脳の外側へと移動する独特の発生様式を獲得しています。そこで、環境の様々なストレスに依存して Notch シグナルが一時的に上昇した場合、哺乳類独特の脳構築の過程が障害をうけるのではないかと、という仮説を立てました。これを検証するため、Notch シグナルを一時的に増強するタンパク質を哺乳類、爬虫類、鳥類の大脳に導入し、脳の構築にどのような影響が出るのかを検証しました。その結果、哺乳類（マウス）の大脳では Notch シグナルの増強により神経細胞の正常な移動や分布が大きく阻害されたのに対して、爬虫類（カメ）や鳥類（ニワトリ）の脳ではこうした脳構築の大きな異常が確認されませんでした。こうした結果より、Notch シグナルの温度依存性は種に特異的な脳の発生様式と関連しており、哺乳類の神経前駆細胞における Notch シグナルの温度非感受性は、シグナル活性を適切なレベルに保つ安全機構として機能していることが推察されました。

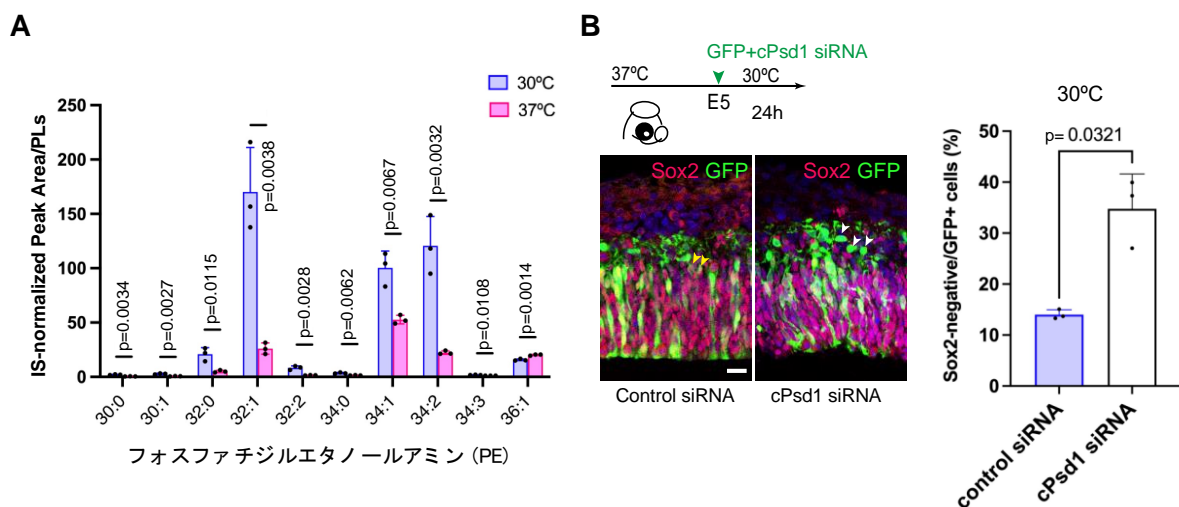


図2 温度依存的なグリセリン脂質の含有量の変化。(A) 30°Cの培養条件では、ニワトリ神経前駆細胞におけるフォスファチジルエタノールアミン(PE)の含有量が上昇した。(B) PEの合成を阻害すると、胎児期の神経細胞の分化が亢進した。

今回の研究のブレイクスルーポイントは以下の通りです。

- 卵生動物の神経前駆細胞では、低温によって Notch シグナルが上昇することを発見しました。これは温度に依存した発生や代謝に関するこれまでの定説を覆すものです。
- リン脂質の組成の変化が Notch シグナルの活性に影響を与えることを発見しました。細胞内シグナル伝達におけるリン脂質の新たな機能が明らかとなりました。
- Notch シグナルの温度感受性が動物種によって異なることを発見しました。これは、温度依存的な発生プログラムが多様な進化を遂げたことを示唆するものです。

3 今後の展開と社会へのアピールポイント

胎児期における温度環境の変化は生物の表現型に大きな影響を与えることが知られています。多くの爬虫類では発生期の温度に依存して性が決定されます。またヒトの機能的な汗腺の数は乳児期に経験する気温に依存して変化することも報告されています。こうした環境の変化によって発生プロセスが変化する現象は「発生可塑性」と呼ばれ、生物の環境

適応と進化をもたらした原動力の一つと考えられています(図3)。今回、胎児期の温度変化に対する発生可塑性のメカニズムの一端が明らかとなり、生物が持つ柔軟な環境応答能力に対する理解がより深化することが期待されます。また近年、胎児期の胚体外環境の変化が生後の様々な疾病の一要因となりうる、という「健康と疾病の発生起源仮説」が提唱されています。本研究により、温度変化に対する発生可塑性の破綻が脳の発生にどのような影響を与えるのかが明らかとなりました。こうした研究成果は、様々なヒトの疾病の病態の理解や治療法の開発に貢献することが期待されます。ライフステージの早期における環境要因の影響を理解することは、ヒトの健康と長寿を目標とした医療・保健計画の立案にも大きな意義を持つものです。

近年、地球規模での気候変動による不可逆的な環境変化が懸念されています。環境温度に対する発生可塑性や脆弱性の解明は、生態系の変化が私達に及ぼす影響の理解にも重要な指針を与えるものです。

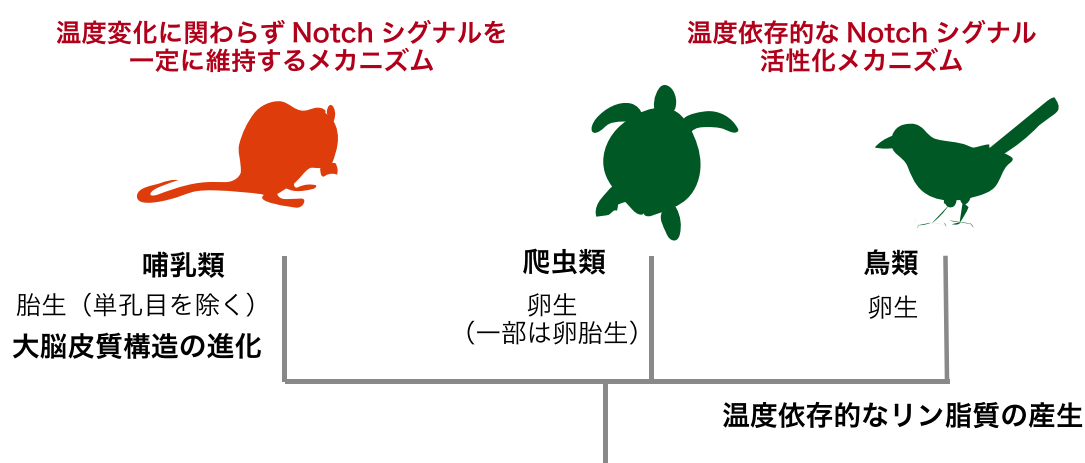


図3 Notch シグナルの温度依存性の多様性と進化。爬虫類、鳥類の脳では温度依存的な Notch シグナルの制御メカニズムが存在する。一方、哺乳類では温度変化があってもシグナル活性を一定に保つメカニズムが存在する。こうしたメカニズムの違いは、温度ストレスに対する応答メカニズムが多様に進化したことを示唆している。

研究プロジェクトについて

本研究は以下の研究費の支援を受けておこなわれました。

日本学術振興会 科研費 基盤(B)(17H03552, 21H02591) (野村 真)

日本学術振興会 科研費 新学術領域「温度を基軸とした生命現象の統合的理解」(16H01394, 18H04701) (野村 真)

上原記念生命科学財団 研究助成 (野村 真)

用語解説

※1 神経前駆細胞 胎児期の脳原基に多く存在する細胞で、神経細胞やグリア細胞を生み出す能力を持つ。こうした特性から、マトリックス細胞という名称が藤田哲也・京都府立医科大学名誉教授によって提唱されている。

※2 Notch シグナル 細胞の運命決定に働くシグナルの1つで、細胞膜貫通型の Notch 受容体によって伝達される。脳神経系の発生期において Notch シグナルは神経細胞の分化を抑制し神経前駆細胞を維持する機能を持つ。

※3 リポーターベクター 細胞間、細胞内シグナルの活性を測定するためのプラスミドベクター。今回使用したものは Notch シグナルが活性化されるとルシフェラーゼと呼ばれる

酵素のタンパク質が産生する仕組みになっており、酵素活性を測定することで Notch シグナルの活性化状態を定量化することができる。

※4 フォスファチジルエタノールアミン(PE) 生体膜を構成する主要なリン脂質の1つ。通常、脂質二重膜の内側に多く局在しているが、PEの含有量や局在の変化は細胞増殖や細胞死など様々な生命現象に関わることが報告されている。

<p><研究に関すること> 京都府立医科大学大学院神経発生生物学 准教授 野村 真 電 話：075-703-4941 E-mail:tadnom@koto.kpu-m.ac.jp</p>	<p><広報に関すること> 事務局企画広報課 担当：土屋 電 話：075-251-5804 E-mail:kouhou@koto.kpu-m.ac.jp</p>
---	--