

大脳皮質における多層性の神経産生

玉巻伸章*

脳室に面した細胞層の神経幹細胞は、脳を構成する細胞のほとんどを生み出す。生み出された細胞には、最終的に分化した細胞のみならず、さらに分裂して一部の細胞種のみを生み出す前駆細胞も生み出す。脳室下帯などに遊走した前駆細胞には、GABA 作動性顆粒細胞のみを生み出すもの、興奮性顆粒細胞のみを生み出すもの、希突起膠細胞のみを生み出すものなどがある。再生医療に利用するには、生み出す細胞種が確定している前駆細胞を分離して利用することが、より効果的な結果を約束するのではなかろうか。

はじめに

脳は、人間の 1.4kg に及ぶ脳であっても蛙の 0.1g に満たない脳であっても、外胚葉上皮に由来する神経上皮が神経管を形成し、肥厚し、褶曲することによりつくられる。神経上皮細胞は細胞分裂をくり返し、その形態を単層円柱上皮から偽多層上皮(多列上皮)へと変えつつ、中枢神経系のほとんどの細胞を生み出す。

神経上皮の細胞分裂については、大きく分けて二つの説があった。ひとつは His¹⁾ にさかのぼり、神経上皮の脳室端に観察される丸い胚芽細胞(germinal cell)が分裂して神経細胞を生み出し、双極型をした海綿芽細胞(spongioblasts)はグリアを生み出すというものである。

Key Word

神経幹細胞
神経上皮
前駆細胞
脳室帯
脳室下帯

それに対するのは、Sauer²⁾ が提唱した説で、神経上皮すべての細胞が神経幹細胞であり、脳室側端で分裂、軟膜側で次の細胞周期に備えつつ、核は上下運動をするというものである。さらに藤田³⁾ は、³H-thymidine を使って神経上皮細胞が軟膜側で DNA を合成し細胞周期にしたがってエレベーター運動をすることを証明し、個々の領域の神経上皮の細胞はほぼ一樣なものと主張した。

この後、皮質板形成期になると、Rakic⁴⁾ は、形態観察の結果より、放射状グリアが神経上皮細胞からまずはじめに分化すると考え、神経幹細胞が分裂することにより生み出された神経細胞は、放射状グリアに沿って軟膜に向けて移動していくと主張した。しかし、神経上皮から放射状グリアが現れるまで、順次、脳室帯にアデノウイルスベクターによりクラゲ蛍光蛋白 GFP の遺伝子を導入し発現させて脳室帯の細胞の形態を調べてみても⁵⁾、神経上皮細胞と放射状グリアのあいだには形態的な違いはなく(図①)、両者を含有物質によっても区別することは難しい。唯一の違いは、細胞体層と基底膜(後の軟膜)

* TAMAMAKI Nobuaki/京都大学大学院医学研究科高次脳形態学

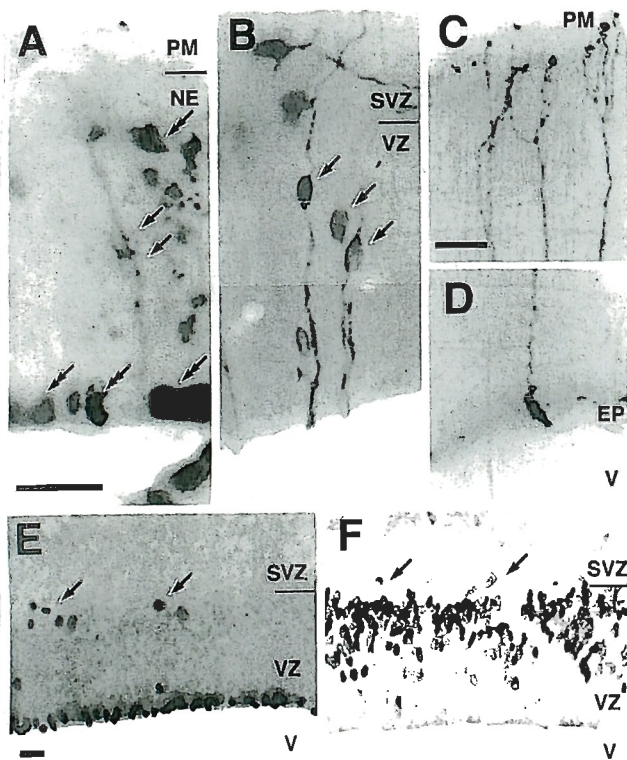


図1 脳室帯および脳室帯外での細胞増殖

A: アデノウイルス感染による GFP 発現で明らかとなった E11 マウス胎児大脳皮質中の神経上皮細胞. 切片は分裂中の上皮細胞の核を染め出すために, 抗リン酸化ヒストン H3 抗体による免疫組織もおこなっている. 矢印は GFP を発現している神経上皮細胞を示し, 二重の矢印は分裂中の神経上皮細胞の核を示す.

B: アデノウイルス感染による GFP 発現で明らかとなった E15 マウス胎児大脳皮質脳室帯中の放射状グリア. 矢印は GFP を発現している放射状グリアを示す.

C: 生後 1 日目にアデノウイルスを感染させて 5 日目に観察した放射状グリアの放射状線維の終末足枝.

D: 同放射状グリアの細胞体(矢印).

E: E15 のマウス胎児脳室帯の抗リン酸化ヒストン H3 抗体による免疫組織像. 矢印は脳室下帯の分裂細胞核を示す.

F: BrdU の母体腹腔内投与し 15 分後に灌流固定, BrdU を免疫組織化学により検出した E15 のマウス胎児脳室帯像. 矢印は脳室下帯の BrdU 取り込み細胞核を示す. A, C, E のバーは 50 μ m で, それぞれ B, D, F にも適用できる.

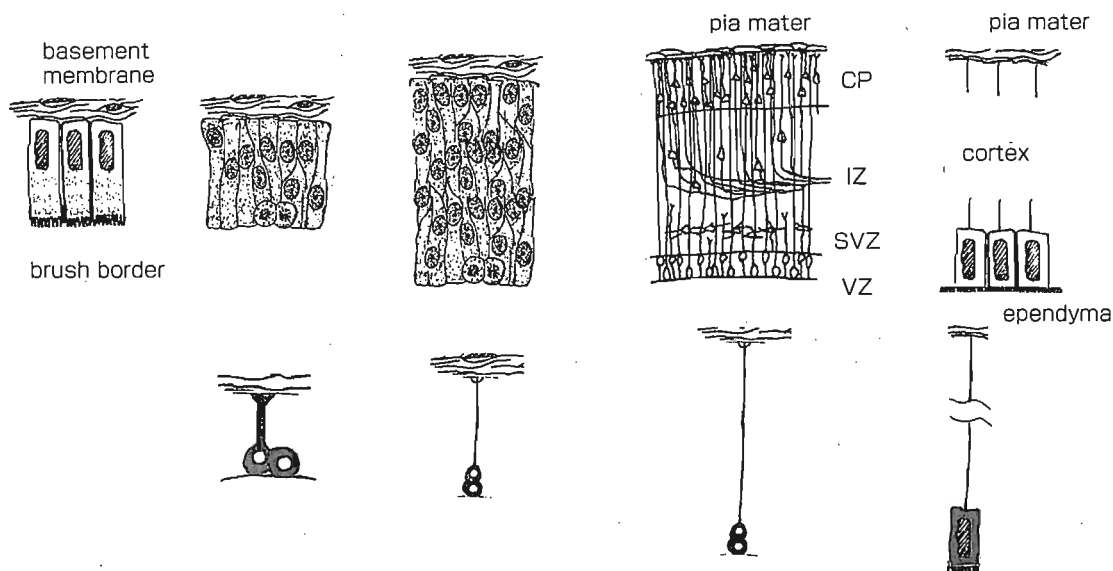
のあいだに, 分化した多極細胞や前皮質板や辺縁層の細胞が挿入されたことにより, 上降する放射状線維がより長くなったことがある. そのようななか, 昨年, 放射状グリアは大脳新皮質の神経幹細胞としてはたらくことが示された^{9)~7)}. 今, 神経上皮細胞が早期の胎児の神経幹細胞であり, 放射状グリアが皮質板形成期の神経幹細胞であると考えられている. 前者は上皮細胞であり後者はグリアであり, 異なる種の細胞であるとして語られるが, その根拠は非常に希薄なものである. 上皮組織はその基本構造として, ささまざまな配列様式をもった細胞体層と, 腔に面する側の対面に基底膜をもち, 上皮細胞の多くは基底膜に付着している. 神経上皮も基底膜に付着して構造を維持し成長するが, 放射状グリアも基底膜(軟膜)に放射状線維で付着して脳室帯の構造を維持し成長している. 放射状グリアは脳室帯に細胞体をもった神経上皮細胞と考えるべきである(図2)⁹⁾.

1. 生後の神経産生

近年の再生医学の進展は, 世の大きな関心を集めてい

る. 脳科学においては, 成人の脳にも神経細胞産生能をもつ神経幹細胞が存在するかどうか大きな注目が集まっている⁹⁾¹⁰⁾. Johansson らは¹¹⁾, 大脳皮質に残存する神経幹細胞のひとつの候補として, 脳室に面したところにある上衣細胞を挙げた. それに対し, Doetsch らは¹²⁾ 脳室下帯の GFAP 陽性のアストロサイトが残存する神経幹細胞であるとして報告した. そのデータを見るかぎりにおいて, いずれかが間違いでいずれかが正しいというよりは, 著者には, 両者ともが正しく異なる神経前駆細胞を観察していたように思えた.

上皮組織は, 胎児期に偽多層構造をしていた脳室帯が, 細胞数が減少したことで単層上皮となってできた組織で, 上皮組織とみなせる. しかし, 上皮組織の基本構造である基底膜は, 上衣層と白質層のあいだにはない. 生後一週間以内のマウスの上衣細胞の形態を, GFP-組み換えアデノウイルスの感染で形態を観察すると, 上衣細胞は下降線維をもたない放射状グリアの形態をし, 上降線維を軟膜(基底膜)にまで伸ばしていた(図1 C, D). つまり上衣層は, 神経上皮, 脳室帯と呼称を変えてきた



図② 脳室帯構成細胞の発生と分化

神経上皮の発生を示す模式図。下位にはその時々神経幹細胞の分裂の様子を描いた。放射状グリアや上衣細胞は神経上皮細胞が変形された細胞とみなせ、上皮細胞である。

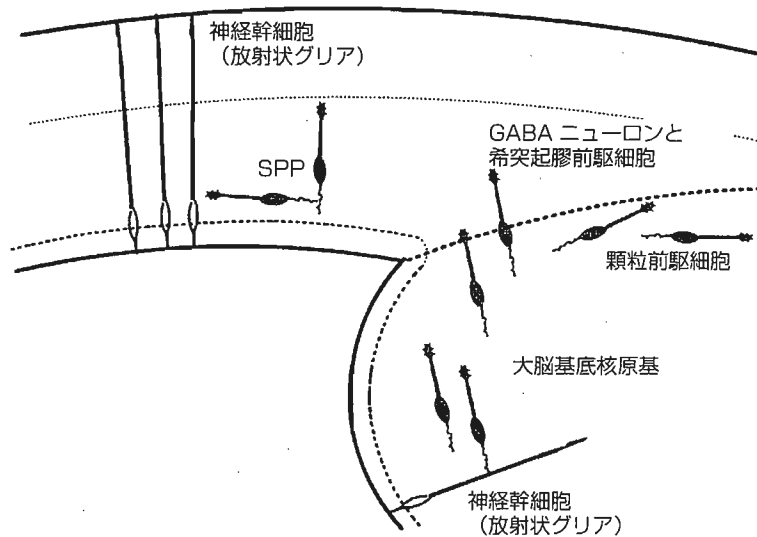
構造それ自身であり、上衣細胞はG0期に入った放射状グリアそれ自身と考えられる⁸⁾。実際、上衣層の連続した構造である脈絡層上皮は、移植するとアストロサイトに分化する能力があることが報告されている¹³⁾。放射状グリアは鳥類では生涯残存すると報告されているが¹⁴⁾、哺乳類においても生後にも残存するものであることが確かめられた(図①C)。

では、脳室下帯のGFAP陽性の細胞は、どのような由来のものなのであろうか。それは突然現れたものではないはずである。GFAPはアストロサイトのマーカーとしてよく用いられてきたが、放射状グリアにも胎生後期には含まれるようになり、神経幹細胞のマーカーともいえる。GFAPのみならずnestin, RC2, vimentinなども、放射状グリアのマーカーといわれるが、神経幹細胞のマーカーでもある。現在、脳室帯、脳室下帯で、GFAPを含有する細胞をアストロサイトであると定義することは不可能ではなかろうか。細胞種は細胞の機能により定義されるべきで、含有される分子がその機能に直接関与するものでなければ、細胞種の識別に用いるべきではないと考える。ではDNA合成能や細胞分裂マーカーの分布から、脳室下帯で分裂能をもつ前駆細胞の出現を胎児期に辿ってみると、非常に早い時期から観察さ

れることに気づく(図①A)。

2. 脳室帯外での神経細胞産生

マウスで胎生12日目というとき、大脳嚙側内側面の皮質は神経上皮と基底膜から構成されていてまだ前皮質板も形成されていない。このような神経上皮では、Hisが記載したように脳室端で盛んに細胞分裂が観察される。しかし細胞分裂像は、脳室端のみならず基底膜への附着端でも見つかる(図①A)。神経上皮の基底膜への附着端領域は、後に神経細胞が集積し、辺縁帯、脳室下帯、前皮質板ができる領域であり、最終的に大脳新皮質は、神経上皮の細胞体層(脳室帯、後の上衣層)と基底膜(軟膜)のあいだに挿入される形で完成する⁸⁾。神経上皮だけの構造から発生が進み、皮質板が挿入される時期になると、分裂能を有する細胞は脳室帯と脳室下帯に集中するようになり、高橋ら¹⁵⁾は、脳室下帯で分裂能をもつ細胞集団のことをsecondary proliferating population(SPP)として記載した(図③)。これまでSPPは、つねにグリアの前駆細胞を生み出しているとされてきたが、神経細胞の産生を否定するデータは出されていない。また脳室帯以外での神経細胞産生は、これまでにいくつかの例において知られるところとなっている。



図④ 大脳皮質と大脳基底核の神経幹細胞より生じる2次的前駆細胞

最もよく、そして早くから知られているのは、大脳基底核原基から生じ嗅球に向かう神経前駆細胞(顆粒前駆細胞)は、移動中も分裂をくり返すことである。この細胞群は嗅球に入り、嗅覚二次神経細胞である僧帽細胞とシナプスするGABA作動性の顆粒細胞となる。嗅上皮の嗅細胞は常に新生されて入れかわっている関係で、その下流の神経回路を維持する顆粒細胞も常に供給を受ける必要があるのであろうか、大脳基底核原基上皮の残存する皮質基底核角上皮と脳室下帯に相当する顆粒細胞の移動経路(rostral migratory stream)途中で顆粒前駆細胞は分裂をつづける。同顆粒細胞の起源である大脳基底核原基では、胎児期から脳室下帯で、他の領域にGABA神経細胞を供給するためであろうか、神経細胞産生をうかがわせる報告もある。ついでよく知られている海馬歯状回での神経細胞産生は、げっ歯類では歯状回の半分は生後形成されることもあいまって、生後も引き続き盛んに起こる。生後2週目には、歯状回は成体のものと変わらない形態を呈し、入出力も出そろうと神経細胞産生も減少し、おもに顆粒細胞層基底端(hilus側)に収束する。顆粒細胞の樹状突起先端にある海馬裂は二次的にできた軟膜(基底膜)に相当するが、顆粒細胞層基底端は脳室帯に相当するか、脳室下帯に相当するか、また特異な構造なのか議論がつくされねばならないと考える¹⁶⁾。

脳室帯外での神経細胞産生は、まだまだ例外的なもの

と考えられてきた。しかしその例外が、一つが二つになってきたとき、胎児期にまで目を広げれば、これ以外にはないと言い切る根拠はないように思える。成体で脳室下帯に神経細胞産生がみられたように、胎児期のSPPも神経細胞を産生するようなことがあるのではなかろうか。

3. 脳室帯外での細胞増殖の意味

では脳室下帯で増殖する細胞はどのようなものであろうか。SPPの数は、大脳基底核原基を付けたスライスでは大脳基底核原基側で多く、大脳基底核原基を除くと減少するという報告から、大脳基底核原基に起源をもつ細胞が増殖する可能性が示唆されていた。その正体は基底核原基に起源をもつ希突起膠前駆細胞であることが最近報告されている¹⁷⁾。また*Pax6*遺伝子の異常で、脳室下帯の増殖細胞数が増加することも報告されている¹⁸⁾¹⁹⁾。*Pax6*の異常で増加する増殖細胞はRC2陽性で、本来脳室帯で増殖するはずの放射状グリアが異所性に分布して増殖していると考えられている。しかし脳室帯の神経幹細胞がひとつ分化の階段を下ったものが脳室下帯の増殖細胞であるならば、*Pax6*は大脳新皮質神経幹細胞の分化を調節していると考えられる。

脳室帯では、神経幹細胞としてはたらく放射状グリア(神経上皮細胞)が分裂して神経細胞を供給する。脳室帯

は神経上皮の細胞体層部分であるのに対し、脳室下帯は、神経上皮細胞体層と基底膜のあいだに挿入された分化した細胞が構成する脳実質である。それゆえ、脳室帯(+神経上皮+上衣層)での細胞増殖と脳室帯外の細胞増殖は、分化の度合いが異なり分けるべきものと考えられる。脳室帯で増殖した一部の細胞は分化の階段を一段下った前駆細胞として脳実質に遊走をはじめ、SPPとして脳室下帯に分布する。基底核原基上皮の神経幹細胞から生じたSPPの遊走方向は、接線方向に向けられていて、大脳皮質に向かう希突起膠前駆細胞や、嗅球に向かう顆粒前駆細胞を供給している。大脳新皮質脳室帯から生じたSPPの一部は、放射方向に向けた放射状線維をもっていることがRC2とBrdUの二重標識からわかる。しかし、大脳新皮質脳室帯から生じたSPPからどのような細胞が生じるかはいまだ解明されていない。海馬歯状回の分裂能をもった顆粒前駆細胞は、海馬原基上皮から生じて遊走し、歯状回を形成してゆく²⁰⁾。

おわりに

ここまで脳室帯外での細胞増殖の性質を羅列してきたが、その結果から見えてきたことがらに、もしGFAPは神経幹細胞や前駆細胞にも含まれる分子であり、GFAPを含むからといってただちにアストロサイトとはいえないとするならば、脳室下帯に見られた細胞増殖は、それぞれGFAP陽性の前駆細胞が単一の細胞種のみを生み出す増殖過程であったと考えられる点が挙げられる。単一の細胞種のみを生み出す細胞は、神経幹細胞ではなく、あくまで前駆細胞とよぶべきであろう。このような仮定を証明するには、培養系に移す実験ではなく、タグの付いた(例えばグリーンマウスの)前駆細胞を分離して、ただちにワイルドのマウスの脳内に移植し、どのような種の細胞を生み出すかを追跡することが有効な手段と考えている。もし筆者の仮説が正しいならば、タグの付いた前駆細胞は、単一の細胞種のみを生み出すところが観察されるであろう。

今、中枢神経系の異常や外的因子による障害を、移植医療により克服することを企画するならば、どのような細胞を生み出すか未確定の神経幹細胞を移植するよりも、また特定種の細胞を純度高く多量に得るためにも、

神経幹細胞をスタートにするより、生み出す細胞種が確定している前駆細胞を分離して利用することが、より効果的な移植医療を約束するのではなからうか。

文献

- 1) His W : Zur Geschichte des menschlichen Rückenmarks und der Nervenwurzeln. *Abh kgl Sachs Ges Wissensch math phys. Kl* 13 : 479-513, 1887
- 2) Sauer FC : The interkinetic migration of embryonic epithelial nuclei. *J Morphol* 60 : 1-11, 1936
- 3) Fujita S : Kinetics of cellular proliferation. *Exp Cell Res* 28 : 52-60, 1962
- 4) Rakic P : Mode of cell migration to the superficial layers of fetal monkey neocortex. *J Comp Neurol* 145 : 61-84, 1972
- 5) Tamamaki N *et al* : Radial glia is a progenitor of neocortical neurons in the developing cerebral cortex. *Neurosci Res* 41 : 51-60, 2001
- 6) Miyata T *et al* : Asymmetric inheritance of radial glial fibers by cortical neurons. *Neuron* 31 : 727-741, 2001
- 7) Noctor SC *et al* : Neurons derived from radial glial cells establish radial units in neocortex. *Nature* 409 : 714-720, 2001
- 8) Tamamaki N : Radial glia and radial fibers : What is the function of radial fibers? *Anatomical Science International* 77 : 2-11, 2002
- 9) Eriksson *et al* : Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat Med* 4 : 1313-1317, 1998
- 10) Kornack DR *et al* : Cell proliferation without neurogenesis in adult primate neocortex. *Science* 294 : 2127-2130, 2001
- 11) Johansson CB *et al* : Identification of a neural stem cell in the adult mammalian central nervous system. *Cell* 96 : 25-34, 1999
- 12) Doetsch F : Subventricular zone astrocytes are neural stem cells in the adult mammalian brain. *Cell* 97 : 703-716, 1999
- 13) Kitada M *et al* : Differentiation of choroid plexus ependymal cells into astrocytes after grafting into the pre-lesioned spinal cord in mice. *Glia* 36 : 364-374, 2001
- 14) Alvarez-Buylla, A *et al* : Proliferation "hot spots" in adult avian ventricular zone reveal radial cell division. *Neuron* 5 : 101-109, 1990
- 15) Takahashi T *et al* : Early ontogeny of the secondary proliferative population of the embryonic murine cerebral wall. *J Neurosci* 15 : 6058-6068, 1995
- 16) Seaberg RM *et al* : Adult rodent neurogenic regions : the ventricular subependyma contains neural stem cells, but the dentate gyrus contains restricted progen-

- itors. *J Neurosci* 22 : 1784-1793, 2002
- 17) He W *et al* : Multipotent stem cells from the mouse basal forebrain contribute GABAergic neurons and oligodendrocytes to the cerebral cortex during embryogenesis. *J Neurosci* 21 : 8854-8862, 2002
- 18) Gotz M *et al* : Pax6 controls radial glia differentiation in the cerebral cortex. *Neuron* 21 : 1031-1044, 1998
- 19) Estivill-Torres G *et al* : Pax6 is required to regulate the cell cycle and the rate of progression from symmetrical to asymmetrical division in mammalian cortical progenitors. *Development* 129 : 455-466, 2002
- 20) Altman J *et al* : Migration and distribution of two populations of hippocampal granule cell precursors during the perinatal and postnatal periods. *J Comp Neurol* 301 : 365-381, 1990

たままき・のぶあき ● 1956年、大阪生まれ
 専門は神経解剖学。専門テーマは犬脳皮質の神経回路。
 趣味は旅行。