Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2025-07-20

マウス大脳皮質の形成異常 : リーラーマウスを中心に

寺島, 俊雄
吉川, 知志

(Citation)
脳の科学,21(12):1319-1324

(Issue Date)
1999-12

(Resource Type)
journal article

(Version)
Version of Record

(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/90003112

特集　脳の発生と奇形の分子生物学

マウス大脳皮質の形成異常
——リーラーマウスを中心に——

寺島俊雄*，吉川知志*

抄　録　リーラー（*reeler*）マウスは，Falconerによって1948年に発見され，1951年に初めて報告された常染色体劣性遺伝性の自然発症性ミュータントマウスである。行動学的には振戦や失調性歩行など小脳性運動失調を示す。組織学的には脳のほとんどの領域に細胞構築異常が認められる。特に層構造を特徴とする大脳皮質，海馬，小脳皮質の異常が顕著であるが，下オリーブ核や顔面神経核などの脳幹の神経核の細胞構築も異常である。発見当初はさして注目を集めなかったが，1960年代以降実に多くの研究がこのマウスを用いて行われ，その発症機序についてさまざまな仮説が作られては否定されてきた。そして1995年に原因遺伝子リーリン *reelin*（遺伝子記号：*Reln*）が最終的に同定されて以来，リーラーの研究は一段と熱を帯びてきている。本総説では，リーラーマウスの大脳皮質の構造異常を中心にして最近の知見を紹介する。
脳の科学　21：1319-1324，1999

key words: *reeler, reelin, Cajal-Retzius cells, migration, cerebral cortex*

I．リーラーマウス *reeler* mouse

リーラーには数々の系統があり，それぞれの系統が遺伝地図の作成や機能解析に欠くことができない[3]。1948年にエジンバラで発見されて以来，もっとも徹底的に研究された系統をエジンバラ・リーラー（Edinburgh *reeler*；$Reln^{rl}$）という。この系統は，現在，系統維持の中心であるジャクソン研究所にちなんでジャクソン・リーラー（*Jackson reeler*；$Reln^{J}$）と呼ぶこともある。1961年にフランス・オルレアンで見つかったオルレアン・リーラー（*reeler* Orleans；$Reln^{rl\ Orl}$）は，BALB/c系統に見つかった自然発症性ミュータントであるが，Reelinが細胞外に分泌されないためにリーラーフェノタイプを呈する系統である。*reelin*遺伝子の全長のクローニングに道を開いたのがトランスジェニック・リーラー（*reeler* transgenic；$Reln^{tg}$）である。この系統は*supfos*遺伝子が*reelin*遺伝子内に挿入されてできた挿入変異マウスである。さらにラットにもリーラーに類似するミュータント *Shaking Rat Kawasaki* があるが，この変異ラットはラット*reelin*の異常によるリーラーラットである[12,26]。このように豊富なアレルの存在がリーラーを用いた研究に厚みを与えている。

II．原因遺伝子 *reelin*

*reelin*遺伝子座の染色体上における位置は，近交系間の交雑により第5染色体上にマップされた。さらにマイクロサテライト・マーカーを利用して詳細な連鎖地図解析が行われ，第5染色体の動原体のごく近傍に*reelin*遺伝子座があることが突き止められた。そして*reelin*遺伝子座を含むDNA塩基配列がYACクローンを用いたポジ

Developmental anomaly of the cerebral cortex with special reference to the *reeler* mouse.

*神戸大学医学部第一解剖
［〒650-0017 神戸市中央区楠町7-5-1］
Toshio Terashima, Satoshi Kikkawa: Department of Anatomy and Neurobiology, Kobe University School of Medicine, 7-5-1 Kusunoki-cho, Chuo-ku, Kobe, 650-0017 Japan.

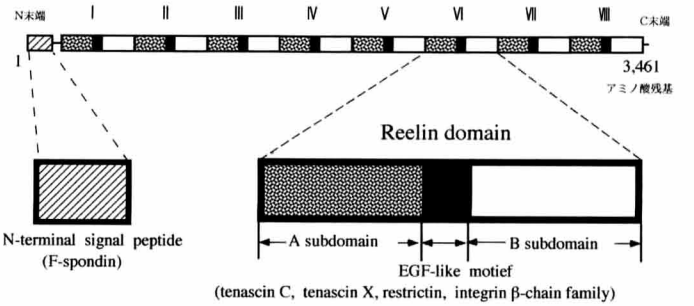

図1 Reelin蛋白の構造

Reelinは，3461個のアミノ酸残基からなる糖蛋白で，N端末のシグナルペプチドに引き続いてReelinドメインといわれる構造が8回繰り返す（reelin repeat)。Reelinドメインは中央のEGF様モチーフを介してAサブドメインとBサブドメインからなる。

ショナルクローニングにより解析され，*reelin*遺伝子の一部が解読された[1,8]。まったく独立してTom Curranのグループは*supfos*遺伝子の挿入により得た*c-fos*トランスジェニック・リーラーを用いて*reelin*遺伝子の全長を解明した[4]。*reelin* mRNAのサイズは12kbで，3461アミノ酸からなるReelin蛋白(385kDa)をコードする(図1)。*reelin*遺伝子は65個のエクソンからなり，ゲノム上で450kbにおよぶ範囲に分布する[20]。ReelinはN端にシグナルペプチドをもち，膜貫通ドメインがないことより分泌性蛋白であると考えられている。*reelin*をCOS細胞にトランスフェクトすると，Reelinに糖鎖が付加されてより高分子の状態で分泌されてくる[5]。Reelinは350-390アミノ酸残基からなる*reelin*ドメイン構造が8回繰り返す*reelin*リピートをもつ。個々の*reelin*ドメインは中央のEGF様モチーフをはさんでAサブドメインとBサブドメインからできている。システインが豊富なEGF様モチーフは，テネイシンC，テネイシンX，レストリクチン，インテグリンβ鎖ファミリーなどの細胞外蛋白とのホモロジーが高い。ReelinのN端末190アミノ酸残基は底板細胞から分泌されるF-spondinと25%のホモロジーがある。エジンバラ・リーラーの*reelin* cDNAは，5'側は正常であるが3'側の8kbが欠失しており*reelin* mRNAの発現はまったくない。

*reelin*の発現は胎生embryological day (E) 11.5日よりはじまり，出生まで次第に増強し，生後2週間は高い発現レベルを示す。以後しだいに発現は弱くなるが，成体でも脳に弱い発現を認める。*reelin* cDNAを用いた*in situ*ハイブリダイゼーション法によると，大脳皮質ではカハール・レチウス細胞，小脳皮質では外顆粒細胞に強いシグナルを認める[4,8,13]。

小川らはまったく別の角度からReelinがリーラー奇形の原因であることを明らかにした[18]。ある遺伝子産物Xが欠損するためにリーラー奇形が生じるとしたならば，正常マウス胎仔大脳のホモジネートでリーラーを免疫感作すれば，正常動物の大脳と免疫組織学的に反応するが，リーラーの大脳とは反応しない抗X同種間抗体が作成できるだろう。このような仮定にもとづいて作成したモノクローナル抗体CR-50を用いて正常マウス胎仔脳を免疫染色すると，大脳皮質ではカハール・レチウス細胞，小脳皮質では外顆粒細胞がCR-50免疫陽性であった。その後CR-50はReelinの第251-407アミノ酸残基をエピトープとして認識していることが免疫沈降法により証明された[5]。またCR-50抗体はReelin活性を中和する能力があり，器官培養系に加えることによりリーラーフェノタイプを導き出すことができる[7,15,18]。さらに*in vivo*においても胎仔脳室系にCR-50を投与することにより，リーラーフェノタイプを誘導することができる[17]。

Reelinは細胞外マトリックスとして機能を果

たすことが推測されていたが，CR-50免疫組織化学により実際に証明された[18]。この細胞外の分布が決定的に重要である。オルレアン・リーラーでは，L1トランスポゾンの挿入によるエクソンスキッピングのために *reelin* cDNA の3' 末端に近い領域が220bpほど欠損し，その結果フレームシフトを起こすことより，Reelin蛋白のC末端に機能的に重要なアミノ酸配列があることが予想された[23]。そこでC端側の133アミノ酸をコードする部分を切り取った *reelin* をCOS細胞にトランスフェクトしたところ，細胞内に産生される短かいReelinが細胞外に分泌されないことがわかり，Reelin蛋白のC末端側の高度に荷電した領域が細胞外分泌にかかわることが証明された。さらにReelinのN端末を認識する抗Reelin抗体を用いてオルレアン・リーラーの大脳皮質を免疫染色すると，カハール・レチウス細胞の細胞質はReelin抗体免疫陽性であるが，細胞表面上や細胞外には免疫活性は認められなかった[6]。以上より，Reelinは細胞外に分泌されて機能をもつ蛋白であることが証明された。

III. 大脳皮質の発生とリーラー

正常マウスの大脳新皮質は6層構造を呈する。皮質の第1層（分子層 molecular or plexiform layer；P）は主に入力線維と下位細胞層（第2-6層）のニューロンの頂上樹状突起からなる線維層であり，細胞成分は乏しいが，ここにカハール・レチウス細胞がある。第2層（小型錐体細胞層 small pyramidal cell layer；SP）と第3層（中型錐体細胞層 medium pyramidal cell layer；MP）の境界はあまり明瞭ではなく，第2/3層として一括して扱われることが多い。第4層（顆粒細胞層 granule cell layer；G）は，視床からの入力線維（視床皮質投射系）を受ける層である。第5層（大型錐体細胞層 large pyramidal cell layer；LP）は脊髄，上丘，下丘等の皮質下核に投射する出力層である。第6層（多形細胞層 polymorphic cell layer；PM）は視床へ投射する皮質視床投射ニューロンからなる。リーラーでは，第1層に相当する線維層がなく，第2-6層からなる細胞層が逆転するといわれている。すなわち表層より順に第6層の多形細胞層（PM），第5層の大型錐体細胞層（LP），第4層の顆粒細胞層（G），第2/3層の中型および小型錐体細胞層（MP+SP）の細胞層からなる。しかし，このような逆転構造は必ずしも正しくない。例えば正常マウス運動野の第5層（LP層）を占める皮質脊髄路ニューロンは，リーラーでは表層より数えて第2番目のLP層に限局せず，皮質の全層に広く分布する[9,24]。したがってリーラー大脳皮質の層構造は厳密な意味での逆転構造には当たらない。

このリーラー大脳皮質のいわゆる「逆転構造」を理解するには，正常マウスの大脳皮質の発生を理解する必要がある。脳室壁を覆う脳室帯の神経前駆細胞は対称性分裂を繰り返してその数を増すが，ある時期より非対称性分裂を行いニューロンを産生する。このニューロンは，一部は表層に向かって放射状に移動し，一部は接線方向に移動する。軟膜に向かって放射状に移動するニューロンは，放射状グリア線維にガイドされて移動する。胎生10-11日（E10-11）に脳室帯で最終分裂を終えて表層に向かって放射状に移動したニューロンは，軟膜直下にプレプレートを形成する。プレプレートと脳室帯の間を中間帯といい，移動中のニューロンで占められる。ついでE12-17に脳室帯で発生して移動を開始したニューロンは，プレプレートの中に進入し，皮質板を形成する（図2A）。遅れて移動を開始した皮質板ニューロンは既に移動を終えた皮質板ニューロンをバイパスして乗り越えるため，皮質板の深層ほど発生が古く，表層ほど発生が新しい（インサイド・アウト構造）。皮質板は将来の第2-6層になる。一方，皮質板によりプレプレートは表層の辺縁帯と深層のサブプレートに二分される。辺縁帯は将来の第1層でありカハール・レチウス細胞が同層を占める。サブプレートは将来の白質（おそらく第6層の深部も）になる層で，ここをサブプレート・ニューロンが占める。サブプレート・ニューロンは，発生上，最初の大脳皮質出力細胞で，視床と大脳皮質間の神経回路に足場を提供した後，自らは変性していくパイオニア・ニューロンとしての機能がある。

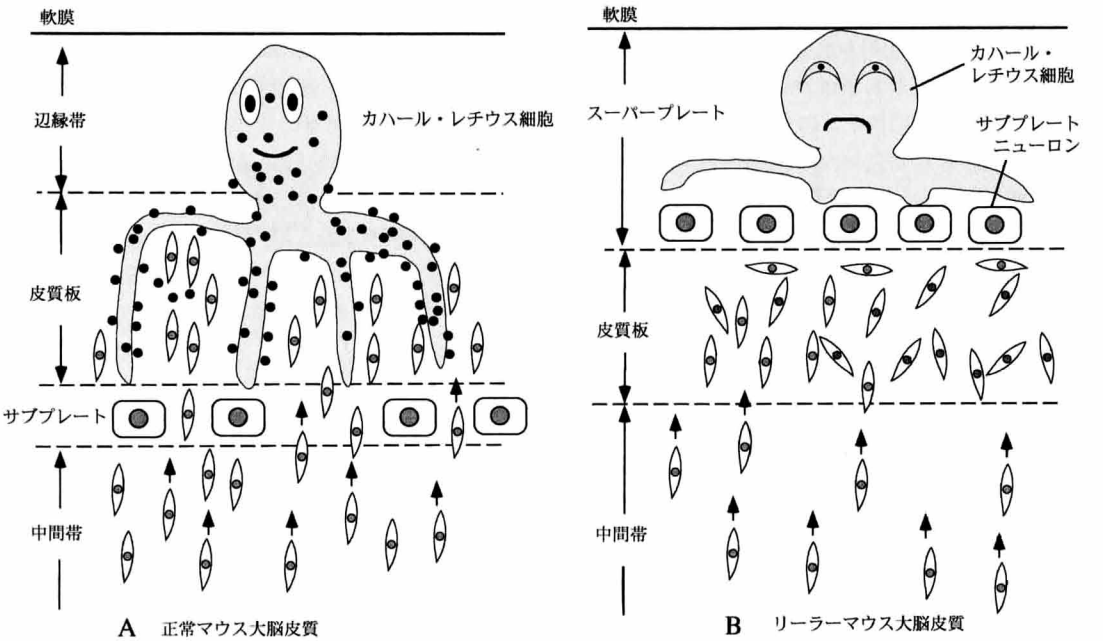

図2 正常マウスとリーラーマウスのカハール・レチウス細胞

A：正常マウスでは，辺縁帯のカハール・レチウス細胞が細胞外へ Reelin（黒丸）を分泌する。中間帯を移動中の皮質板ニューロンはサブプレートを越えて，辺縁帯とサブプレートの間に皮質板を形成する。B：エジンバラ・リーラーでは，カハール・レチウス細胞が Reelin を産生しない。カハール・レチウス細胞とサブプレートニューロンの間が分離せず，中間帯を移動中の皮質板ニューロンがサブプレート・ニューロンを越えることができない。その結果，皮質板ニューロンはサブプレートの直下にたまり，ここに皮質板を形成する。リーラーではカハール・レチウス細胞がある辺縁帯とサブプレート・ニューロンからなるサブプレートが分離せず，これをスーパープレートという。

プレプレートができるまでのリーラー大脳皮質の初期発生はまったく正常である。つまりカハール・レチウス細胞やサブプレート・ニューロンの移動はリーラーで正常である。しかしリーラーでは，皮質板ニューロンがプレプレート内に進入できず，プレプレートの下にたまってしまう（図2B）。しかも遅れて移動を開始したニューロンは既に移動を終えたニューロンを乗り越えることができないので，皮質板の表層ほど発生的に古い（アウトサイド・イン構造）。このため大脳皮質の層構造がリーラーで「逆転」することになる。ここでリーラーのプレプレートは皮質板の上方を占めることより，スーパープレートという。リーラーのカハール・レチウス細胞は正常と同様に軟膜直下を占めるが，サブプレート・ニューロンは皮質板の直上方となり，サブプレート・ニューロンと皮質板との相対的位置が正常とは逆になる。したがってリーラーのサブプレート・ニューロンは異所性に存在することになり，サブプレート・ニューロンが視床皮質投射線維をガイドするというアルゴリズムを検証するのに格好の実験系を提供する。リーラーの大脳皮質には皮質の深層から表層に向かって斜行する異常な有髄線維束があるが，この異常線維束は異所性サブプレートニューロンから一過性に視床に伸びる線維にガイドされた視床皮質投射線維であることがカルボシアニン蛍光色素 DiI を用いたホルマリン固定脳で証明された[16,28]。

IV. Reelin の機能

リーラーの大脳皮質細胞構築異常は，①皮質板ニューロンがプレプレート内に進入できない，②移動中の皮質板ニューロンが既に移動を終えた皮

質板ニューロンを乗り越えることができない（アウトサイド・イン構造）の2点に集約できる。この2点をふまえてReelinの機能に関して以下の仮説をたてることができる。

仮説1：Reelinはプレプレートを辺縁帯とサブプレートに分離する機能があり，Reelinが無ければ両者が分離できず，プレプレート内に皮質板ニューロンが進入できない。

仮説2：Reelinは放射状グリア線維からのニューロンの分離を促進することによりニューロンの移動を止めるストップ・シグナルとしての機能があり，それを欠如するリーラーでは放射状グリア線維と皮質板ニューロンが分離せず，表層から深層に向かって発生順に皮質ニューロンが数珠つなぎに放射状グリア線維上に並ぶ。

仮説3：Reelinのプレプレート内の濃度勾配は移動ニューロンをプレプレート内に誘因する作用があり，濃度勾配のないリーラーではニューロンが皮質板内に誘因されずプレプレート直下にたまってアウトサイド・イン構造になる。

仮説4：移動を終えたニューロン同士の細胞間接着を阻害する作用がReelinにあり，リーラーでは移動を終えたニューロン間の接着が強固なためその間をニューロンがすり抜けることができず，アウトサイド・イン構造になる。

おわりに

最近，リーラーに類似する一群のミュータントマウスが発見された。1991年に発見されたスクランブラーマウスは自然発症ミュータントマウスで，そのフェノタイプは極めてリーラーに類似する[22]。ヨタリマウスはIP_3レセプター遺伝子のノックアウトマウスを作成する過程で挿入変異により偶然得られた系統で，このミュータントもリーラーに類似したフェノタイプをもつ[27]。その後，スクランブラーとヨタリは，ショウジョウバエ*disabled*遺伝子のマウスホモローグ mouse *disabled* homologue 1（*mdab1*）の異常であることが判明した[10,21]。リーラーの脳の細胞構築異常とは若干様相を異にするが，*cdk*5や*p*35ノックアウトマウスの脳も細胞構築異常を示す[2,14,19]。さらにごく最近，超低密度リポ蛋白受容体とアポリポ蛋白E受容体のダブルノックアウトマウスがリーラー様の脳の構築異常を呈することがわかり，Cell誌の表紙を飾ったことは記憶に新しい[25]。これらのミュータントの中でも*mdab1*$^{-/-}$マウスは，リーラーとまったく同じフェノタイプを示すことより特に重要である。Reelinを欠損するリーラーマウスでは，移動ニューロンにおけるmDab1蛋白の強い発現が細胞移動期が終了後も維持され，しかもmDab1のチロシンリン酸化が低いレベルに押さえられている[11]。つまりReelinはmDab1のチロシンリン酸化を誘導することにより，間接的に移動ニューロンの最終的な位置決めをしている。したがってmDab1の機能やその標的蛋白が解明されれば，Reelinの機能が「間接的」に明らかとなるであろう。1995年の*reelin*遺伝子の単離からわずか5年の間に，ニューロンことに大脳皮質ニューロンの細胞移動の研究は長足の進歩をみせ，おぼろげながらもその分子メカニズムの概要を思い浮かべることができるようになった。今後の展開が楽しみである。

謝辞

この総説を執筆するにあたり南康博博士（神戸大学医学部第一生化学）に適切なコメントをいただいたことを感謝します。

文献

1) Bar, I., Lambert De Rourvoit, C., Royaux, I. et al.: A YAC contig containing the *reeler* locus with preliminary characterization of candidate gene fragments. Genomics, 26: 543-549, 1995.
2) Chae, T., Kwon, Y. T., Bronson, R. et al.: Mice lacking *p*35, a neuronal specific activator of Cdk5, displays cortical lamination defects, seizures, and adult lethality. Neuron, 18: 29-42, 1997.
3) D'Arcangelo, G., Curran, T.: Reeler: new tales on an old mutant mouse. BioEssays, 20: 235-244, 1998.
4) D'Arcangelo, G., Miao, G. G., Chen, S. C. et al.: A protein related to extracellular matrix proteins deleted in the mouse mutant *reeler*. Nature, 374: 719-723, 1995.
5) D'Arcangelo, G., Nakajima, K., Miyata, T. et al.: Reelin is a secreted glycoprotein recognized by the

CR-50 monoclonal antibody. J. Neurosci., 17 : 23-31, 1997.

6) de Bergeyck, V., Nakajima, K., Lambert de Rouvroit, C. et al. : Truncated reelin proteins is produced but not secreted in the 'Orleans' *reeler* mutation (*Reln*$^{rl\ Orl}$). Mol. Brain Res., 50 : 85-90, 1997.

7) Del Rio, J. A., Heimrich, B., Borrell, V. et al. : A role for Cajal-Retzius cells and *reelin* in the development of hippocampal connections. Nature, 385 : 70-74, 1997.

8) Hirotsune, S., Takahara, T., Sasaki, N. et al. : The *reeler* gene encodes a protein with an EGF-like motif expressed by pioneer neurons. Nature Genetics, 10 : 77-83, 1995.

9) Hoffarth, R. M., Johnston, J. G., Krushel, L. A. et al. : The mouse mutaion reeler causes increased adhesion within a subpopulation of early postmitotic cortical neurons. J. Neurosci., 15 : 4838-4850, 1995.

10) Howell, B. W., Hawkes, R., Soriano, P. et al. : Neuronal positions in the developing brain is regulated by *mouse disabled-1*, Nature, 389 : 733-737, 1997.

11) Howel, B. W., Herrick, T. M., Cooper, J. A. : Reelin -induced tyrosine phosphorylation of disabled 1 during neonatal positioning. Genes Dev., 13 : 643-648, 1999.

12) Ikeda, Y., Terashima, T. : Corticospinal tract neurons are radially malpositioned in the sensory-motor cortex of the Shaking rat Kawasaki. J. Comp. Neurol., 383 : 370-380, 1997.

13) Ikeda, Y., Terashima, T. : Expression of *reelin*, the gene responsible for the *reeler* mutation, in embryonic development and adulthood in the mouse. Dev. Dynamics, 210 : 157-172, 1997.

14) Kwon, Y. T., Tsai, L-H. : A novel distribution of cortical development in *p35*$^{/}$ mice distinct from reeler. J. Comp. Neurol., 395 : 510-522, 1998.

15) Miyata, T., Nakajima, K., Mikoshiba, K. et al. : Regulation of Purkinje cell alignment by reelin as revealed with CR-50 antibody. J. Neurosci., 17 : 3599-3609, 1997.

16) Molnar, Z., Adams, R., Goffinet, A. M. et al. : The role of the first postmitotic cortical cells in the development of thalamocortical innervation in the *reeler* mouse. J. Neurosci., 18 : 5746-5765, 1998.

17) Nakajima, K., Mikoshiba, K., Miyata, T. et al. : Distribution of hippocampal development in vivo by CR-50 mAb against reelin. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 94 : 8196-8201, 1997.

18) Ogawa, M., Miyata, T., Nakajima, K. et al. : The *reeler* gene associated antigen on Cajal-Retzius neurons is a crucial molecule for laminar organization of cortical neurons. Neuron, 14 : 899-912, 1995.

19) Ohshima, T., Ward, J. M., Huh, C-O. et al. : Targeted disruption of the cyclin-dependnet kinase 5 gene results in abnormal corticogenesis, neuronal pathology and perinatal death. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 93 : 11173-11178, 1996.

20) Royaux, I., Lambert de Rouvroit, C., D'Arcangelo, G. et al. : Genomic organization of the mouse reelin gene. Genomics, 46 : 240-250, 1997.

21) Sheldon, M., Rice, D. S., D'Arcangelo, G. et al. : *Scrambler* and *yotari* disrupt the *disabled* gene and produce a *reeler*-like phenotype in mice. Nature, 89 : 730-733.

22) Sweet, H. O., Bronston, R. T., Johnson, K. R. et al. : *Scrambler*, a new neurological mutation of the mouse with abnormalities of neuronal migration. Mamm. Genom., 7 : 798-802, 1996.

23) Takahara, T., Ohsumi, T., Kuromitsu, J. et al. : Dysfunction of the Orleans reeler gene arising from exon skipping due to transposition of a full-length copy of an active L1 sequence into the skipped exon. Hum. Mol. Gen., 5 : 989-993, 1996.

24) Terashima, T., Inoue, K., Inoue, Y. et al. : Distribution and morphology of corticospinal tract neurons in reeler mouse cortex by the retrograde HRP method. J. Comp. Neurol., 218 : 314-326, 1983.

25) Trommsdorff, M., Gotthardt, M., Hiesberger, T. et al. : Reeler/disabled-like disruption of neruonal migration in knockout mice lacking the VLDL receptor and ApoE receptor 2. Cell, 97 : 689-701, 1999.

26) Woodhams, P., Terashima, T. : Laminar boundaries persist in the hippocampal dentate molecular layer of the mutant *Shaking Rat Kawasaki*, despite aberrant granule cell migration. J. Comp. Neurol., 409 : 57-70, 1999.

27) Yoneshima, H., Nagata, E., Matsumoto, M. et al. : A novel neurological mutant mouse, *yotari*, which exhibits *reeler*-like phenotype but express CR-50 antigen/Reelin. Neurosci. Res., 29 : 217-223, 1997.

28) Yuasa, S., Kitoh, J., Kawamura, K. : Interactions between growing thalamocortical afferent axons and the neocortical primordium in normal and *reeler* mutant mice. Anat. Embryol., 190 : 137-154, 1994.