

神経管の閉鎖には、表皮（将来の皮膚）の細胞が頑強になることが必要である

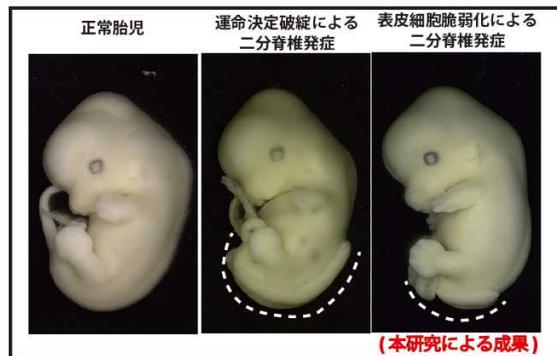
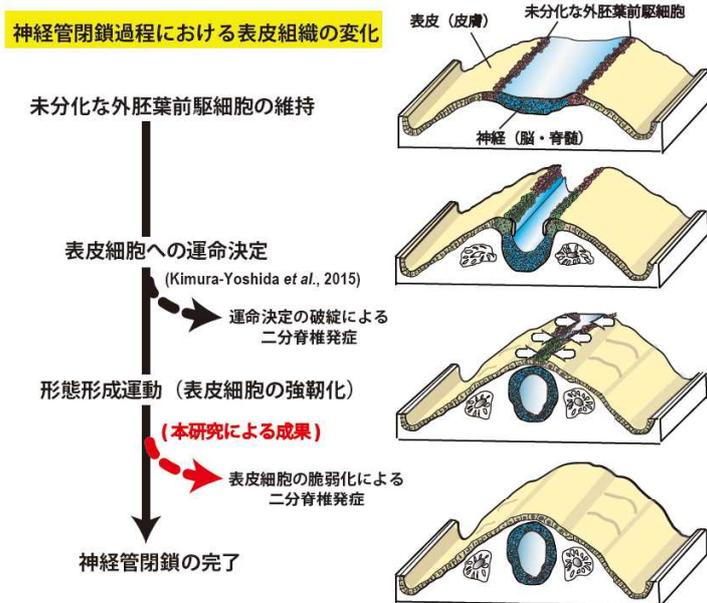
【発見の概要】

新生児の 5%程度は、神経管閉鎖不全(将来脳と脊髄になる神経管がうまく閉じないことによって生じる)など、どこかに生まれつきの異常(先天異常)を持っている。特に、二分脊椎をはじめとする神経管閉鎖不全症候群は、先天性心疾患に次ぐ高い発症頻度(1/2000 人)を示し、全世界では毎年 10 万人程度が発症している。臨床症状としては、下肢の変形や麻痺、尿・便失禁、腎機能障害などがみとめられる。また、外科的手術が、唯一有効な治療法ではあるが、術後も、神経障害が完治せず、後遺症に悩まされているケースが多い。今回、地方独立行政法人 大阪府立病院機構 大阪母子医療センター研究所 病因病態部門 吉田千春主任研究と松尾勲部長らのグループは、マウス胎児の神経管を取り囲む表皮(将来の皮膚)の新しい機能として、表皮の細胞が形態を変化させることで、周りからの機械的な力に対して頑強に(変形に強く)なることが、神経管を閉じていくのに必要であることを見いだした。

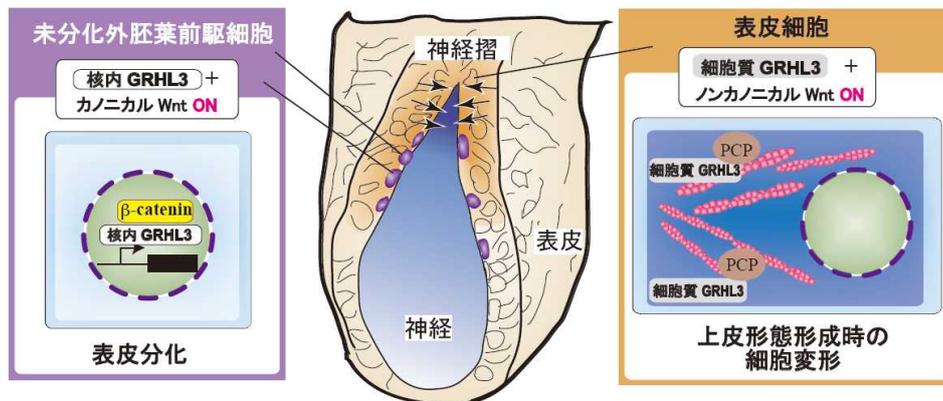
この成果は、10月3日付けのネイチャー・コミュニケーションズ(*Nature communications*)誌に掲載された。

【研究の背景】

哺乳動物の神経管は、最初一層の外胚葉が、表皮(将来の皮膚)と神経の領域が分離し、神経領域が管状化すると同時に向かいあう表皮層が癒合することで完成する(図1)。この神経管管状化の過程は、神経管閉鎖と呼ばれている。この神経管閉鎖の過程で、何らかの異常があると、二分脊椎をはじめとする神経管閉鎖不全症候群を発症する。我々は、これまでに神経と表皮の境界に存在する未分化な外胚葉性前駆細胞が、神経管閉鎖のタイミングで順次、表皮細胞へと分化していくという現象を見いだしている(Kimura-Yoshida *et al.*, 2015)。その際には、Grainyhead-like 3(Grh13)という核内で働く転写因子が、前駆細胞の核内で機能することによって表皮化がひきおこされる(図1、図2左)。しかし、神経管閉鎖には、表皮細胞の運命決定後に引き続いておこる表皮細胞動態の変化が一体どういったものであるのか不明であった。



[図 1]



[図 2]

[研究結果の詳細]

研究グループは、まず胚性幹細胞 (ES) 細胞から表皮細胞を分化させる培養細胞系を試験管内で樹立した。この培養系に *Grainyhead like-3(Grhl3)* を過剰に発現させると、通常の表皮とは異なる、大型で多核化し、アクチオシンやケラチンに富んだ特異な形態の表皮細胞が形成されることを見いだした。この実験系を用いて、GRHL3 の発現と表皮細胞の形態変化との相関性について注意深く解析した。結果、特異な表皮細胞の形成には、転写因子として核内で機能する GRHL3 が細胞質に分布することが必要であることがわかった。更に、この因子が細胞質に分布することで、ノンカノニカル Wnt 経路と呼ばれる細胞表面極性に関わる分子を活性化して、細胞の形態を変化させていることが分かった(図2)。

次に、マウス個体においても *Grhl3* が同様な機能を担っているかどうか、GRHL3 タンパク質が細胞質で局在しないような遺伝子改変マウスを作製し(野生型の GRHL3 に核移行シグナルを付加した)、その表現型を解析した。すると、*Grhl3* は核内では発現できるため、未分化前駆細胞を表皮へと分化は正常に行われるが、その後、細胞表面極性に関わる分子(ノンカノニカル Wnt 経路)を活性化できず、神経管閉鎖不全を発症した(図1下)。

更に、細胞質で発現する *Grhl3* が神経管閉鎖運動にどのような機能を果たしているのか検討するため、GRHL3 を発現する表皮細胞と発現していない表皮細胞の頑強さ(stiffness)を原子間力顕微鏡を用いて計測したところ、GRHL3 を発現する細胞は、発現しない表皮細胞と比較して約 2 倍程度かたくなっていた。更に、*Grhl3* を欠損したマウス胚の神経管閉鎖中の表皮の頑強さは、野生型と比較して顕著に低下していた。従って、GRHL3 が発現する表皮は、周辺からの力によっても変形しにくく、正常に神経管を覆う一連の発生を担えると考えられる(図1,2)。

以上の結果から、神経管を正確に閉じていくためには、前駆細胞が表皮細胞へと分化した後に、引き続きアクチオシンなどの細胞骨格を活性化させることで、変形に強い頑強な組織となる必要があることが明らかになった(図2右)。また、この現象に GRHL3 という核内転写因子が細胞質で機能することが鍵となって、神経管閉鎖の必要不可欠な過程として働いていることが分かった。

[研究結果の意義]

今回の研究結果は、表皮が頑強になることが、発生期の神経管を包み込む過程に必須な機能を担っていることを明確に示した最初の報告である。また、妊娠前からの葉酸服用が発症予防に有効であるが、*Grhl3* 遺伝子変異マウスの二分脊椎のように、葉酸で予防できないタイプの二分脊椎もあることが知られている。従って、今回の研究成果は、表皮細胞(皮膚)の強度を高める(頑強にする)ことで、葉酸では予防が困難な神経管閉鎖不全症候群の新規な発症予防法・臨床症状の軽減緩和方法に道を開くことが期待される。

[掲載原著論文]

タイトル: Cytoplasmic localization of GRHL3 upon epidermal differentiation triggers cell shape change for epithelial morphogenesis.

タイトル和訳: 表皮分化時に GRHL3 が細胞質に局在することによって、上皮形態形成に必要な細胞変形が引き起こされる。

著者: Chiharu Kimura-Yoshida, Kyoko Mochida, Masa-aki Nakaya, Takeomi Mizutani and Isao Matsuo

掲載雑誌: *Nature Communications* DOI: 10.1038/s41467-018-06171-8