Title	哺乳類大脳新皮質6層構造形成におけるReelinの作用機序
Sub Title	How does Reelin act to form the six-layered structure of the mammalian neocortex?
Author	林, 周宏(Hayashi, Kanehiro)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2024
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2023.)
JaLC DOI	
Abstract	分泌性糖タンパク質Reelinは大脳新皮質形成に不可欠な分子であり、滑脳症等の精神疾患の原因遺伝子としても挙げられている。しかしながら、Reelinがどのように神経細胞に作用して大脳新皮質層構造が形成されるかは未だ解明されていない。本研究では、大脳新皮質層構造形成過程におけるReelinの作用機序を明らかにすべく研究を行い、以下の結果を得た。 ① 生化学的実験により、Reelinが神経細胞に受容されると、Reelinシグナル伝達のハブ分子であるDAB1アダプタータンパク質が、脂質ラフトと呼ばれる細胞膜のマイクロドメインに集積することを見出した。さらに、DAB1タンパク質による脂質ラフトへの集積が、神経細胞のN-cadherin依存的な接着力の上昇を誘導することも見出した。移動神経細胞はReelinが豊富に存在する辺縁帯の直下で、その移動を停止する。Reelinの作用により、細胞間接着が強まり細胞移動を停止する可能性が示唆される。 ② 多小脳回患者で見つかったReelinのD557V変異について解析を行った。D557V変異Reelinは、３種のReelin受容体のうち、ApoER2とVLDLRに対する親和性は野生型と同程度だったが、Nrp1に対する親和性が著しく減少していた。一方で、神経細胞をReelin刺激することによって起こるDAB1分子のリン酸化は変異型と野生型で有意差がなかったため、従来のReelinシグナルは正常と考えられた。そのため、Nrp1の下流で未知のシグナル経路が存在する可能性が示唆された。また、Reelin D557V変異マウスを作製し、その組織学的解析を行ったところ、Reelinの分泌量が野生型より優位に減少しているのを確認した。一方で、大脳新皮質層構造は正常であった。さらに、自発性運動、不安性行動等の行動解析でも異常は見られなかった。 この結果を第129回日本解剖学会総会· 全国学術集会にて発表し、さらに現在、共同研究者と論文投稿中である (in revision)。 The secreted glycoprotein Reelin is an essential molecule for the formation of the neocortex and has been cited as a causative gene for psychiatric disorders such as lissencephaly. However, how Reelin acts on neurons to form the layered structure of the neocortex remains to be elucidated. In this study, we investigated the mechanism of Reelin action in the formation of the neocortical layered structure. By biochemical experiments, we found that when Reelin is treated to primary cultured neurons, DAB1 adaptor protein, a hub molecule of Reelin signaling, accumulates in lipid rafts, which are microdomains on the plasma membrane. Furthermore, we found that the accumulation of DAB1 proteins in the lipid rafts induces an increase in N-cadherin-dependent neuronal adhesion. Migrating neurons arrest their migration just below the Reelin-rich Marginal zone, suggesting that Reelin may enhance intercellular adhesion of the neurons there and arrest its migration. The D557V mutation of Reelin found in a patient with polymicrogyria was studied. The D557V mutant Reelin had the same affinity for ApoER2 and VLDLR among the three Reelin receptors as the wild type, but had significantly reduced affinity for Nrp1. On the other hand, the phosphorylation of DAB1 molecules resulting from Reelin stimulation of neurons was not different from that of the wild type, indicating that canonical Reelin signal pathway is normal.This suggests the possibility of an unknown signaling pathway downstream of Reelin-Nrp1. We also generated Reelin D557V mutant mice and analyzed their histology and behavior. We found that Reelin secretion in the mutant mouse was predominantly reduced compared to the wild type. On the other hand, the neocortical layer structure was normal. In addition, no abnormalities were found in behavioral analyses such as free movement and anxious behavior tests. The results were presented at the 129th Annual Meeting of the Japanese Association of Anatomists and are currently being submitted for publication with a collaborator (in revision).
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2023000010-20230273

2024年12月18日

2023年度　学事振興資金（個人研究）研究成果実績報告書

研究代表者	所属	医学部基礎教室	職名	専任講師	補助額	500千円（特Ｂ）
	氏名	林 周宏	氏名（英語）	Hayashi, Kanehiro		

研究課題（日本語）

哺乳類大脳新皮質6層構造形成におけるReelinの作用機序

研究課題（英訳）

How does Reelin act to form the six-layered structure of the mammalian neocortex?

１．研究成果実績の概要

分泌性糖タンパク質Reelinは大脳新皮質形成に不可欠な分子であり、滑脳症等の精神疾患の原因遺伝子としても挙げられている。しかしながら、Reelinがどのように神経細胞に作用して大脳新皮質層構造が形成されるかは未だ解明されていない。本研究では、大脳新皮質層構造形成過程におけるReelinの作用機序を明らかにすべく研究を行い、以下の結果を得た。

① 生化学的実験により、Reelinが神経細胞に受容されると、Reelinシグナル伝達のハブ分子であるDAB1アダプタータンパク質が、脂質ラフトと呼ばれる細胞膜のマイクロドメインに集積することを見出した。さらに、DAB1タンパク質による脂質ラフトへの集積が、神経細胞のN-cadherin依存的な接着力の上昇を誘導することも見出した。移動神経細胞はReelinが豊富に存在する辺縁帯の直下で、その移動を停止する。Reelinの作用により、細胞間接着が強まり細胞移動を停止する可能性が示唆される。

② 多小脳回患者で見つかったReelinのD557V 変異について解析を行った。D557V変異Reelinは、３種のReelin受容体のうち、ApoER2とVLDLRに対する親和性は野生型と同程度だったが、Nrp1に対する親和性が著しく減少していた。一方で、神経細胞をReelin刺激することによって起こるDAB1分子のリン酸化は変異型と野生型で有意差がなかったため、従来のReelinシグナルは正常と考えられた。そのため、Nrp1の下流で未知のシグナル経路が存在する可能性が示唆された。また、Reelin D557V変異マウスを作製し、その組織学的解析を行ったところ、Reelinの分泌量が野生型より優位に減少しているのを確認した。一方で、大脳新皮質層構造は正常であった。さらに、自発性運動、不安性行動等の行動解析でも異常は見られなかった。

　この結果を第129回日本解剖学会総会・全国学術集会にて発表し、さらに現在、共同研究者と論文投稿中である（in revision)。

２．研究成果実績の概要（英訳）

The secreted glycoprotein Reelin is an essential molecule for the formation of the neocortex and has been cited as a causative gene for psychiatric disorders such as lissencephaly. However, how Reelin acts on neurons to form the layered structure of the neocortex remains to be elucidated. In this study, we investigated the mechanism of Reelin action in the formation of the neocortical layered structure.

By biochemical experiments, we found that when Reelin is treated to primary cultured neurons, DAB1 adaptor protein, a hub molecule of Reelin signaling, accumulates in lipid rafts, which are microdomains on the plasma membrane. Furthermore, we found that the accumulation of DAB1 proteins in the lipid rafts induces an increase in N-cadherin-dependent neuronal adhesion. Migrating neurons arrest their migration just below the Reelin-rich Marginal zone, suggesting that Reelin may enhance intercellular adhesion of the neurons there and arrest its migration.

The D557V mutation of Reelin found in a patient with polymicrogyria was studied. The D557V mutant Reelin had the same affinity for ApoER2 and VLDLR among the three Reelin receptors as the wild type, but had significantly reduced affinity for Nrp1. On the other hand, the phosphorylation of DAB1 molecules resulting from Reelin stimulation of neurons was not different from that of the wild type, indicating that canonical Reelin signal pathway is normal.This suggests the possibility of an unknown signaling pathway downstream of Reelin-Nrp1. We also generated Reelin D557V mutant mice and analyzed their histology and behavior. We found that Reelin secretion in the mutant mouse was predominantly reduced compared to the wild type. On the other hand, the neocortical layer structure was normal. In addition, no abnormalities were found in behavioral analyses such as free movement and anxious behavior tests.

The results were presented at the 129th Annual Meeting of the Japanese Association of Anatomists and are currently being submitted for publication with a collaborator (in revision).

３．本研究課題に関する発表

発表者氏名 （著者・講演者）	発表課題名 （著書名・演題）	発表学術誌名 （著書発行所・講演学会）	学術誌発行年月 （著書発行年月・講演年月）
林光太郎、林周宏、本田岳夫、Sofia Ferreira、Nadia Bahi-Buisson、Alessandra Pierani、仲嶋一範	発生期大脳新皮質の移動神経細胞を適切に停止させるメカニズム	第129回日本解剖学会総会・全国学術集会	2024年3月